

Aus der Klinik und Poliklinik für Neurologie
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Beeinflussung labordiagnostischer Befunde durch artefizielle Blutbeimengungen im Liquor cerebrospinalis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz
dem Fachbereich Medizin vorgelegt

von Almut Reske
aus Kempten

Mainz 1979

Aus der Klinik und Poliklinik für Neurologie
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Beeinflussung labordiagnostischer Befunde
durch artefizielle Blutbeimengungen im
Liquor cerebrospinalis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz
dem Fachbereich Medizin vorgelegt

von Almut Reske
aus Kempten

Mainz 1979

Dekan: Prof. Dr. H. Leithoff

1. Gutachter: Prof. Dr. G. Haferkamp

2. Gutachter: Prof. Dr. H.C. Hopf

Tag der mündlichen Prüfung: 28. 11. 1979



DEN LUMBALPUNKTIERTEN PATIENTEN

GEWIDMET



<u>1.)</u>	<u>Einleitung</u>	1
1.1.)	Unterscheidung zwischen pathologischer und artefizieller Blutung im Liquor	
1.2.)	Verwertbarkeit von artefiziell blutigem Liquor	2
1.3.)	Begründung der eigenen Untersuchungen	2
<u>2.)</u>	<u>Methodik</u>	4
2.1.)	Durchführung der Versuchsreihen	4
2.1.1.)	Herstellung und Aufarbeitung der Blut-Liquor-Verdünnungsreihen	
2.1.2.)	Versuchsanordnung bei der Bestimmung des Zeiteinflusses auf die Liquorbefunde.	5
2.2.)	Zählung der Erythrozyten und Leukozyten	5
2.3.)	Bestimmung des Gesamteiweißes	6
2.4.)	Bestimmung der Glukose	6
2.5.)	Bestimmung des IgG	6
2.6.)	Bestimmung des Ammoniak	10
<u>3.)</u>	<u>Ergebnisse</u>	11
3.1.)	Meßwerte	
3.1.1.)	Abhängigkeit der Leukozytenzahl von der Menge des zugesetzten Blutes	11
3.1.2.)	Abhängigkeit des Gesamteiweißes von der Menge des zugesetzten Blutes	13
3.1.3.)	Abhängigkeit des IgG und des IgG/Eiweiß-Quotienten von der Menge des zugesetzten Blutes	16
3.1.4.)	Abhängigkeit der Glukose von der Menge des zugesetzten Blutes	17
3.2.)	Korrelations- und Regressionsanalyse	22

3.3.)	Einfluß der Zeit zwischen Punktion und Messung auf die Meßergebnisse	27
3.3.1.)	Abhängigkeit der Erythrozyten- und Leukozytenzahl sowie des Gesamteiweißes von der Zeit	27
3.3.2.)	Einfluß der Zeit auf die IgG-Bestimmung	32
3.3.3.)	Einfluß der Zeit auf die Glukose-Bestimmung	33
3.3.4.)	Einfluß der Zeit auf den p_H -Wert	33
3.3.5.)	Einfluß der Zeit auf die Ammoniakbestimmung	36
3.3.6.)	Einfluß des p_H auf die Zellstabilität	37
4.)	<u>Diskussion</u>	41
4.1.)	Unterscheidung zwischen pathologischer und artefizieller Blutung	41
4.2.)	Beeinflussung der Leukozytenzahl durch artefizielle Blutbeimengung	42
4.3.)	Beeinflussung des Liquorzytogramms durch Blutbeimengungen	43
4.4.)	Beeinflussung des Gesamteiweißes durch artefizielle Blutbeimengungen	44
4.5.)	Beeinflussung der Eiweißzusammensetzung durch artefizielle Blutbeimengungen	46
4.6.)	Beeinflussung der Wassermann-Reaktion durch artefizielle Blutbeimengungen	48
4.7.)	Beeinflussung der Lipide durch artefizielle Blutbeimengungen	48
4.8.)	Beeinflussung des IgG durch artefizielle Blutbeimengungen	48
4.9.)	Beeinflussung der Glukose durch artefizielle Blutbeimengungen	51
4.10.)	Einfluß der Zeit zwischen Punktion und Messung auf die Liquorzusammensetzung	52
5.)	<u>Zusammenfassung</u>	56
	Literaturverzeichnis	58

1.2. Verwertbarkeit von artefiziell blutigem Liquor

Außerdem ging man der Frage nach, ob sich eine artefiziell mit Blut vermischte Liquorprobe diagnostisch noch auswerten lasse und ob die Befunde durch die Blutbeimengungen verändert werden. (5,10,18,23,28, 35)

Dabei untersuchte man vor allem die Beeinflussung des Gesamteiweißes und der Eiweißzusammensetzung des Liquors durch die Blutbeimengungen. Da inzwischen zusätzlich zu den halbquantitativen Eiweißfällungsmethoden die Biuretmethode und neben den Kolloidreaktionen, die nur indirekte Hinweise auf die Eiweißzusammensetzung liefern, die quantitative Immunglobulinbestimmung durch radiale Immundiffusion oder Laser-Nephelometrie in die Routinediagnostik eingeführt sind, erscheint es sinnvoll, den quantitativen Beziehungen zwischen Blutbeimengung und Eiweiß- bzw. Immunglobulingehalt im Liquor nochmals nachzugehen.

Der Einfluß artefizieller Blutbeimengungen auf die Leukozytenzahl wurde bisher nur aufgrund theoretischer Überlegungen abgeschätzt (23,24), die Bestimmung der Glukose gar nicht berücksichtigt. Es wurde bisher auch noch nicht systematisch geprüft, wie sich der blutige Liquor nach der Punktion im Lauf der Zeit verändert und welche Rolle der p_H -Wert dabei spielt.

1.3. Begründung der eigenen Untersuchungen.

Deshalb haben wir uns im Rahmen dieser Arbeit folgenden Aufgaben zugewandt:

- a.) Abhängigkeit der Leukozytenzahl von der Menge des dem Liquor zugefügten Blutes
- b.) Abhängigkeit des Gesamteiweißes von der Menge des dem Liquor zugefügten Blutes (Biuretmethode)
- c.) Abhängigkeit des IgG von der Menge des dem Liquor zugefügten Blutes
- d.) Abhängigkeit der Glukose von der Menge des dem Liquor zugefügten Blutes

e.) Einfluß der Zeit zwischen Punktion und Untersuchung

auf die Erythrozytenzahl
auf die Leukozytenzahl
auf das Gesamteiweiß
auf das IgG
auf die Glukose
auf den p_H -Wert

f.) Einfluß des Liquor- p_H -Wertes auf die Lebensdauer der darin enthaltenen Zellen.

2.) Methodik

2.1.) Durchführung der Versuchsreihen

2.1.1.) Herstellung und Aufarbeitung der Blut-Liquor-Verdünnungsreihen.

Da für eine Verdünnungsreihe zur Bestimmung von Zellzahl, Gesamteiweiß, IgG und Glukose mindestens 20 ml Liquor erforderlich waren, man aber den Patienten die Entnahme so großer Liquormengen zusätzlich zu den für die Routinediagnostik erforderlichen Volumina nicht zumuten konnte, wurden bei den meisten Meßreihen blutfreie Liquores verschiedener Patienten gemischt und mit diesem Mischliquorpool nach folgendem Schema Blut-Liquor-Verdünnungsreihen hergestellt:

4 ml Liquor + 80 μ l Blut = (1:50)-Verd.
 2 ml Liquor + 2 ml (1:50)-Verdünnung = (1:100)-Verd.
 2 ml Liquor + 2 ml (1:100)-Verdünnung = (1:200)-Verd.

u.s.w.

bzw.:

4 ml Liquor + 60 μ l Blut = (1:67)-Verd.
 2 ml Liquor + 2 ml (1:67)-Verdünnung = (1:134)-Verd.

u.s.w.

Blutkonzentrationen von mehr als 1:50 herzustellen, war wegen spontaner Gerinnung fast nie möglich.

Das Blut wurde für jede Meßreihe aus der Fingerbeere eines Spenders mittels 10- oder 20 μ l-Kapillarpipetten entnommen und sofort, ohne Zusatz gerinnungshemmender Substanzen, mit dem entsprechenden Liquorvolumen gemischt.

Unmittelbar nach der Herstellung der Liquor-Blut-Mischung wurden von jeder Konzentrationsstufe die für die Zellzählung nötigen Volumina mit Leukozytenpipetten entnommen. Der Rest wurde 5 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert, anschließend dekantiert und im zellfreien Überstand Gesamteiweiß, IgG, Glukose oder p_H -Wert gemessen.

2.1.2.) Versuchsanordnung bei der Bestimmung des Zeiteinflusses auf Zellzahl, Gesamteiweiß, IgG, Glukose und p_H -Wert.

Um den Einfluß zu ermitteln, den die zwischen Punction und Messung verstrichene Zeit auf die verschiedenen diagnostischen Befunde ausübt, wurde eine größere Menge einer bestimmten Blut-Liquor-Mischung hergestellt, z.B. 40 ml Liquor und 400 μ l Blut (1:100-Verdünnung). Der Augenblick der Blutzugabe wurde als Zeit 0 definiert. Bei jeder Messung zu einer bestimmten Zeit t wurden die Volumina für die Zellzählung entnommen und die Zellen gezählt. Die für die Bestimmung des Gesamteiweißes, des IgG, der Glukose und des p_H -Wertes entnommenen Anteile wurden bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und im Überstand die entsprechenden Werte gemessen. Der Rest der Blut-Liquor-Mischung blieb bis zur jeweils nächsten Messung im geschlossenen Polyäthylengefäß. Wurde für einen Ansatz mehr als 1 ml Blut benötigt, so wurde dieses durch Venenpunktion gewonnen und wie das Kapillarblut sofort, ohne Gerinnungshemmer zuzusetzen, dem Liquor zugemischt.

2.2.) Zählung der Erythrozyten und Leukozyten.

Die Zellen im Liquor werden in Deutschland fast ausschließlich mit der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer (Rauminhalt 3,2 mm³, der die Schreibweise $n/3$ Zellen begründet) gezählt. Um die Erythrozyten zu zählen, wird nach der üblichen Vorschrift (27) in einer Leukozytenpipette bis zur Marke 1 Hayemsche Lösung und anschließend bis zur Marke 11 Liquor bzw. Blut-Liquor-Gemisch aufgezogen, 5 Minuten geschüttelt und in der Fuchs-Rosenthal-Kammer bei 125-facher Vergrößerung gezählt. Die Hayemsche Lösung ($HgCl_2$ 0,25 g, Na_2SO_4 2,5 g, $NaCl$ 0,5 g, destilliertes Wasser 100 ml) ist blutisoton, verändert Form und Farbe der Zellen kaum und wirkt durch den Quecksilber-(II)-Chlorid-Anteil fixierend (16). Bei den Meßreihen, in denen der Einfluß der Zeit auf die Zellzahl getestet wurde und ein Teil der Erythrozyten durch Hämolyse zerstört war, wurden nur die Zellen mitgezählt, deren typische Form man noch erkennen konnte. D.h. Stechapfelformen und leicht deformierte Zellen wurden noch erfaßt, amorphe Zellfetzen nicht mehr.

Die Leukozyten werden ebenso gezählt. Statt Hayemischer Lösung verwendet man Samsonische Lösung (99 %ige Essigsäure 90 ml, Phenol 6 ml, 10 %ige Fuchsinlösung, destilliertes Wasser ad 300 ml), um die Erythrozyten zu zerstören und die Leukozyten zu färben. Der doppelte mittlere Fehler beträgt nach Delank (7) $\pm 4/3$ Zellen/mm³, die relative Standardabweichung nach Rick (23) 10 %.

2.3.) Bestimmung des Gesamteiweißes.

Das Eiweiß wurde nach der von Weichselbaum (36) entwickelten und von der Firma Boehringer Mannheim GmbH für die Routinediagnostik ausgefeilten Biuretmethode (2) bestimmt. Das Prinzip beruht darauf, daß alle Verbindungen mit mehr als zwei Carbamylgruppen ($-\text{CO}-\text{NH}_2$), die durch nicht mehr als ein Kohlenstoff- oder Stickstoffatom getrennt sind, also auch die Proteine, mit Kupferionen in alkalischer Lösung einen blauen Farbkomplex bilden. Seine Extinktion bei 546 nm ist der Proteinkonzentration direkt proportional.

2.4.) Bestimmung der Glukose.

Die Glukose wurde nach der Vorschrift der Firma Boehringer Mannheim GmbH (3) nach der Glukose-Hexokinase-Methode bestimmt. Dabei wird Glukose durch Zugabe von ATP und Hexokinase zu Glukose-6-phosphat umgewandelt. Dieses wird mit der Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase zu Glukonat-6-phosphat oxydiert. Dabei wird das eingesetzte NADP^+ zu NADPH^+ reduziert, welches im Bereich von 365 nm absorbiert. Die gemessene Extinktionszunahme pro Zeiteinheit durch das entstehende NADPH^+ ist der Glukosekonzentration direkt proportional.

2.5.) Bestimmung des IgG.

Das IgG wurde mit der radialen Immundiffusion nach Mancini (15) nach der Vorschrift der Behring-Werke AG (1) bestimmt. Die Methode beruht darauf, daß die IgG-haltige Lösung in ein Loch in einer mit Anti-Human-IgG getränkten Agarplatte pipettiert wird. Das IgG diffundiert nun kreisförmig aus dem Loch in den Agar. Sobald die Äquivalenzzone zwischen IgG und Anti-IgG erreicht ist, bildet sich nach ca. 48 Stunden um das

Loch ein IgG-Anti-IgG-Präzipitatring, dessen Fläche der Konzentration des IgG direkt proportional ist.

Inzwischen wurde die Diagnostik der Immunglobuline im Liquor durch die Einführung der Laser-Nephelometrie wesentlich bereichert.

Hierbei wird monochromatisches, „scharf gebündeltes“ Laserlicht durch eine Lösung geschickt, die das Antigen-Antikörper-Präzipitat enthält. Die Konzentration des Präzipitats wird durch Messung der Streulicht-Intensität ermittelt, welche der Teilchenzahl direkt proportional ist.

Um das Prinzip der Nephelometrie zu erläutern, muß ich kurz auf einige Grundzüge der Theorie der Lichtstreuung eingehen (17,33). Man unterscheidet bekanntlich Rayleigh- und Mie-Streuung.

Bei der Rayleigh-Streuung ist der Durchmesser des streuenden Teilchens wesentlich kleiner als die Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes. Die Emission von Streulicht kann man dadurch erklären, daß man jedes streuende Molekül mit seiner Elektronenwolke als punktförmigen elektrischen Dipol auffaßt, der in dem elektromagnetischen Wechselfeld des Anregungslichtes mitschwingt und so selbst zur Quelle einer elektromagnetischen Kugelwelle wird.

Unter diesen Voraussetzungen kann man mit Hilfe der Maxwellschen Theorie der elektromagnetischen Strahlung die Intensität des Streulichtes durch folgende Gleichung beschreiben:

$$I = \frac{16 \pi^4}{\lambda^4 R^4} \alpha^2 I_0 \left(\frac{1 + \cos^2 \theta}{2} \right) N$$

I	Intensität des Streulichtes
I_0	Intensität des eingestrahlten Lichtes
λ	Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes
R	Molekülradius
α	elektrische Polarisierbarkeit, ein Maß für die Verschieblichkeit der Elektronen im Molekül
θ	Streuwinkel
N	Teilchenzahl pro Volumeneinheit

Diese Gleichung zeigt, daß die Streulicht-Intensität der Teilchenzahl pro Volumeneinheit, d.h. der Konzentration der streuenden Teilchen direkt proportional ist. Der Faktor $(1 + \cos^2 \theta)$ macht deutlich, daß die Intensität des Streulichtes symmetrisch um das Streuzentrum angeordnet ist.

Alle diese Überlegungen beziehen sich auf Moleküle, deren Abmessungen so klein gegenüber der Wellenlänge des anregenden Lichtes sind, daß das Teilchen als punktförmiger Dipol strahlt. Diese Bedingung trifft jedoch bei den großen Immunglobulin-Anti-Immunglobulin-Komplexen nicht zu. Man muß hier das Teilchen als Wolke vieler Streuzentren auffassen. Seine Elektronen werden von dem eingestrahltten Licht mit verschiedener Phase erregt. Die so entstandenen Streuwellen löschen sich durch Interferenz innerhalb des Moleküls teilweise aus und zwar, wie Mie mit Hilfe der Maxwell'schen Theorie berechnet hat, nach hinten stärker als nach vorne. Durch diese intramolekularen Interferenzen der Streulichtwellen wird also die Richtungsabhängigkeit der Intensität unsymmetrisch und gehorcht nicht mehr dem einfachen Rayleigh'schen $(1 + \cos^2 \theta)$ -Gesetz. Diese Assymmetrie im Streudiagramm des Teilchens nennt man Mie-Effekt.

Da im Falle der großen Immunglobulin-Anti-Immunglobulin-Komplexe die Miestreuung vorherrscht, d.h. die meiste Intensität nach vorne gestreut wird, mißt man die Streustrahlung im Winkelbereich zwischen 5° und 12° . Hier ist die Intensität so hoch, daß man keinen Photomultiplier benötigt, der das Signal-zu-Rausch-Verhältnis verschlechtern würde.

Die Laser-Nephelometrie übertrifft die Methode der radialen Immundiffusion nach Mancini durch größere Schnelligkeit, bessere Reproduzierbarkeit und v.a. höhere Empfindlichkeit.

Zwar wurden im Rahmen dieser Arbeit die IgG-Bestimmungen nach der Immundiffusions-Methode durchgeführt. Dennoch möchte ich eine Gegenüberstellung von Immunglobulin-Werten, die in unserem Labor parallel mit beiden Methoden ermittelt wurden, hier einfügen.

Tab. 2: Immunglobulinbestimmung im Liquor mit dem Rate-Nephelometer von Beckman und den LC-Partigenplatten von Behring.

Patient	IgG (mg/100 ml) Nephelometer	IgG (mg/100 ml) LC-Partigen-Platte
1	3,30	2,8
2	4,41	3,5
3	3,52	3,1
4	3,55	2,8
5	2,05	1,8
6	4,07	4,3
7	2,11	2,2
8	3,74	3,8
9	5,36	5,4
Patient	IgA (mg/100 ml) Nephelometer	IgA (mg/100 ml) LC-Partigen-Platte
1	0,40	-
2	0,60	-
3	0,30	-
4	0,13	-
5	0,25	-
6	0,30	-
7	0,48	-
8	1,20	1,2
9	0,12	-
Patient	IgM (mg/100 ml) Nephelometer	IgM (mg/100 ml) LC-Partigen-Platte
1	0,14	-
2	0,18	-
3	0,08	-
4	0,04	-
5	0,05	-
6	0,07	-
7	0,09	-
8	0,11	-
9	0,02	-
10	0,16	-
11	0,03	-

Die wesentlich höhere Empfindlichkeit der nephelometrischen Methode ist v.a. bei der IgA- und IgM-Bestimmung wichtig, wo in 90 bzw. 100 % der Messungen die Immundiffusion gar keine Ergebnisse lieferte.

2.6.) Bestimmung von Ammoniak im Liquor.

Der Ammoniak wurde nach der von Da-Fonseca-Wollheim (6) erarbeiteten und von der Firma Boehringer Mannheim GmbH zum Monotest entwickelten Methode bestimmt. Das Prinzip dieses photometrischen Ammoniaknachweises besteht darin, daß α -Ketoglutarat mit NADPH in Gegenwart von Ammoniumionen durch GLDH zu Glutamat und NADP^+ umgesetzt wird. Der Verbrauch von NADPH, meßbar durch die Extinktionsabnahme bei 365 nm, ist ein Maß für die vorhandene Ammoniakmenge.

3.) Ergebnisse

3.1.) Meßwerte

3.1.1.) Abhängigkeit der Leukozytenzahl von der Menge des zugesetzten Blutes.

Die bei den verschiedenen Blut-Liquor-Verdünnungen ermittelten Leukozytenzahlen sind in Abhängigkeit von der Erythrozytenzahl in Tabelle 3 zusammengefaßt:

Tab.3: Abhängigkeit der Leukozytenzahl im Liquor von der zugefügten Blutmenge

Ver- such	Eingesetzte Volumina	Verdün- nung $V_B : V_L$	$\frac{\text{Ery}/3}{\text{mm}^3}$	$\frac{\text{L}/3}{\text{mm}^3}$
1	1 ml L 2 ml L + 10 μ l B 1 ml L + 1 ml (1: 200)V 1 ml L + 1 ml (1: 400)V	0 1: 200 1: 400 1: 800	0 35 840 19 130 9 850	13 100 45 38
2	1 ml L 2 ml L + 10 μ l B 1 ml L + 1 ml (1: 200)V 1 ml L + 1 ml (1: 400)V 1 ml L + 1 ml (1: 800)V 1 ml L + 1 ml (1: 1600)V 1 ml L + 1 ml (1: 3200)V 1 ml L + 1 ml (1: 6400)V	0 1: 200 1: 400 1: 800 1: 1600 1: 3200 1: 6400 1: 12800	0 35 820 23 950 13 500 7 040 3 620 2 490 1 120	1 47 25 12 7 4 2 1
3	0,5 ml L 1,0 ml L + 10 μ l B 0,5 ml L + 0,5ml (1: 100)V 0,5 ml L + 0,5ml (1: 200)V 0,5 ml L + 0,5ml (1: 400)V 0,5 ml L + 0,5ml (1: 800)V 0,5 ml L + 0,5ml (1: 1600)V 0,5 ml L + 0,5ml (1: 3200)V	0 1: 100 1: 200 1: 400 1: 800 1: 1600 1: 3200 1: 6400	0 70 700 35 360 18 800 9 350 4 720 2 340 1 160	5 112 63 24 12 9 7 5
4	1 ml L + 2 ml L + 20 μ l B 2 ml L + 30 μ l B 1 ml L + 1 ml (1: 100)V 1 ml L + 1 ml (1: 134)V	0 1: 100 1: 134 1: 200 1: 267	0 86 020 64 310 43 000 32 120	2 95 74 53 37
5	1 ml L 2 ml L + 20 μ l B 1 ml L + 1 ml (1: 100)V 1 ml L + 1 ml (1: 200)V 1 ml L + 1 ml (1: 400)V 0,2 ml L + 1 ml (1: 800)V	0 1: 100 1: 200 1: 400 1: 800 1: 960	0 123 550 40 130 22 700 12 320 11 710	5 129 90 49 25 12

Ver- such	Eingesetzte Volumina	Verdün- nung $V_B : V_L$	$\frac{\text{Ery}}{\text{mm}^3} / 3$	$\frac{L}{3}$ mm ³
6	1 ml L + 20 μ l B	1 : 50	123 520	220
	1,5 ml L + 20 μ l B	1 : 75	105 000	160
	0,5 ml L + 0,5 ml (1 : 50)V	1 : 100	74 560	108
	0,5 ml L + 0,5 ml (1 : 100)V	1 : 200	36 960	54
	0,5 ml L + 0,5 ml (1 : 200)V	1 : 400	23 520	28
	0,5 ml L + 0,5 ml (1 : 400)V	1 : 800	10 080	20
	0,5 ml L + 0,5 ml (1 : 800)V	1 : 1600	6 080	11
	0,5 ml L + 0,5 ml (1 : 1600)V	1 : 3200	3 330	5
7	1 ml L	0	0	0
	1 ml L + 10 μ l B	1 : 100	70 800	120
	0,5 ml L + 0,5 ml (1 : 100)V	1 : 200	40 900	55
	0,5 ml L + 0,5 ml (1 : 200)V	1 : 400	20 000	28
	0,5 ml L + 0,5 ml (1 : 400)V	1 : 800	12 320	14
	0,5 ml L + 0,5 ml (1 : 800)V	1 : 1600	7 680	8
	0,5 ml L + 0,5 ml (1 : 1600)V	1 : 3200	3 800	3
8	1 ml L	0	0	0
	2 ml L + 40 μ l B	1 : 50	132 320	190
	2 ml L + 30 μ l B	1 : 67	91 840	135
	1 ml L + 1 ml (1 : 50)V	1 : 100	66 240	130
	1 ml L + 1 ml (1 : 67)V	1 : 134	57 500	85
	1 ml L + 1 ml (1 : 100)V	1 : 200	35 920	65
	1 ml L + 1 ml (1 : 134)V	1 : 267	33 400	60
	1 ml L + 1 ml (1 : 200)V	1 : 400	22 100	39
	1 ml L + 1 ml (1 : 267)V	1 : 534	14 800	30
	1 ml L + 1 ml (1 : 400)V	1 : 800	13 200	25
	1 ml L + 1 ml (1 : 534)V	1 : 1068	7 720	18
	1 ml L + 1 ml (1 : 800)V	1 : 1600	2 780	10
9	1 ml L	0	60	1
	2 ml L + 40 μ l B	1 : 50	139 360	196
	1 ml L + 1 ml (1 : 50)V	1 : 100	64 060	139
	1 ml L + 1 ml (1 : 100)V	1 : 200	31 150	67

L = Liquor

B = Blut

V = Verdünnung

Ery = Erythrozyten

L = Leukozyten

Die im Vergleich zur Erythrozytenzahl relativ hohe Leukozytenzahl im Versuch 1 läßt sich durch das entsprechende periphere Blutbild des Blutspenders erklären: 11 000 Leukozyten, $4,0 \cdot 10^6$ Erythrozyten/mm³. Bei Versuch 3 wurde kein Mischliquor, sondern Liquor eines einzigen Patienten verwendet. Das periphere Blutbild des Blutspenders war: 7000 Leukozyten und $4,5 \cdot 10^6$ Erythrozyten/mm³. Bei Versuch 5 war das Blutbild des Blutspenders: 5000 Leukozyten und $4,5 \cdot 10^6$ Erythrozyten/mm³.

3.1.2.) Abhängigkeit des Gesamteiweißes von der Menge des zugesetzten Blutes.

Die gemessenen Eiweißwerte sind in Tabelle 4 als Ergebnisse von Einzelbestimmungen (Versuche 1 - 10) und als Mittelwerte von Doppel- (Versuche 11 - 15) und Dreifach-Messungen (Versuche 16 und 17) angegeben. Bei jedem Versuch wurde ein Eiweißstandard von 60 mg/100 ml als Kontrollwert mitgemessen.

Tab.4: Abhängigkeit des Gesamteiweißes im Liquor von der Menge des zugesetzten Blutes

Ver- such	Eingesetzte Volumina	Verdün- nung $V_B : V_L$	Ery/3 mm ³	Eiweiß mg/100ml
1	1,5 ml L	0	0	49,6
	4 ml L + 20 μ l B	1: 200	34 820	65,3
	2 ml L + 2 ml (1: 200)V	1: 400	16 900	58,9
	2 ml L + 2 ml (1: 400)V	1: 800	9 380	57,4
	2 ml L + 2 ml (1: 800)V	1: 1600	5 090	53,7
	2 ml L + 2 ml (1: 1600)V	1: 3200	2 940	52,2
	2 ml L + 2 ml (1: 3200)V	1: 6400	1 350	49,6
	2 ml L + 2 ml (1: 6400)V	1: 12800	670	47,0
	1 ml L + 2 ml (1:12800)V	1: 19200	480	48,5
2	1,5 ml L	0	0	60,0
	3 ml L + 10 μ l B	1: 300	25 600	87,3
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 300)V	1: 600	13 500	82,1
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 600)V	1: 1200	8 960	72,4
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 1200)V	1: 2400	3 960	69,4
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 2400)V	1: 4800	1 970	61,1
	2 ml L + 20 μ l B	1: 100	68 600	97,3
	2 ml L + 10 μ l B	1: 200	34 310	94,0
3	1,5 ml L	0	0	37,3
	3 ml L + 20 μ l B	1: 150	56 200	(53,7)
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 150)V	1: 300	31 890	57,4
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 300)V	1: 600	17 410	47,0
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 600)V	1: 1200	8 450	(55,9)
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 1200)V	1: 2400	4 560	44,8
	1 ml L + 1,5 ml (1: 2400)V	1: 4000	2 880	42,9
4	1,5 ml L	0	0	92,6
	10 ml L + 100 μ l B	1: 100	71 000	128,5
	1,5 ml L + 10 μ l B	1: 150	52 120	114,0
	2 ml L + 2 ml (1: 100)V	1: 200	35 420	103,5
	2 ml L + 2 ml (1: 200)V	1: 400	18 240	93,5
	2 ml L + 2 ml (1: 400)V	1: 800	9 130	94,4
	2 ml L + 2 ml (1: 800)V	1: 1600	4 630	(84,5)
	1 ml L + 2 ml (1: 1600)V	1: 2400	3 480	93,3
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 2400)V	1: 4800	1 720	88,7

Ver- such	Eingesetzte Volumina	Verdün- nung $V_B : V_L$	Ery/3 mm ³	Eiweiß mg/100ml
5	1,5 ml L	0	0	61,2
	4 ml L + 80 µl B	1: 50	126 720	130,6
	2 ml L + 2 ml (1: 50)V	1: 100	67 410	97,7
	2 ml L + 2 ml (1: 100)V	1: 200	40 480	73,1
	2 ml L + 2 ml (1: 200)V	1: 400	21 120	64,9
	2 ml L + 2 ml (1: 400)V	1: 800	11 860	61,2
	2 ml L + 2 ml (1: 400)V	1: 800	11 860	61,2
6	1,5 ml L	0	0	60,0
	4 ml L + 120 µl B	1: 33	150 660	138,0
	2 ml L + 2 ml (1: 33)V	1: 67	72 690	98,8
	2 ml L + 2 ml (1: 67)V	1: 134	30 100	67,9
	2 ml L + 2 ml (1: 134)V	1: 267	14 250	63,4
	1 ml L + 2 ml (1: 267)V	1: 400	11 080	61,2
	1 ml L + 2 ml (1: 267)V	1: 400	11 080	61,2
7	1,5 ml L	0	61	37,3
	4 ml L + 80 µl B	1: 50	139 360	113,0
	2 ml L + 2 ml (1: 50)V	1: 100	64 060	78,7
	2 ml L + 2 ml (1: 100)V	1: 200	31 150	50,7
	4 ml L + 20 µl B	1: 200	35 320	63,4
8	1,2 ml L	0	0	48,8
	3 ml L + 60 µl B	1: 50	135 960	119,0
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 50)V	1: 100	73 920	76,8
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 100)V	1: 200	39 520	73,1
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 200)V	1: 400	21 120	58,2
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 400)V	1: 800	11 260	48,5
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 800)V	1: 1600	4 310	44,0
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 1600)V	1: 1600	4 400	45,1
	1,5 ml L + 1,5 ml (1: 1600)V	1: 1600	4 400	45,1
9	1,5 ml L	0	0	61,5
	4 ml L + 80 µl B	1: 50	135 000	131,7
	2 ml L + 60 µl B	1: 67	98 000	117,9
	2 ml L + 2 ml (1: 50)V	1: 100	66 000	93,6
	2 ml L + 2 ml (1: 67)V	1: 133	48 000	84,3
	2 ml L + 2 ml (1: 100)V	1: 200	35 000	88,0
	2 ml L + 2 ml (1: 133)V	1: 267	24 000	64,9
	2 ml L + 2 ml (1: 200)V	1: 400	17 000	63,4
	2 ml L + 2 ml (1: 267)V	1: 533	12 000	61,1
	2 ml L + 2 ml (1: 400)V	1: 800	8 500	63,4
	2 ml L + 2 ml (1: 533)V	1: 1067	6 000	58,9
	2 ml L + 2 ml (1: 800)V	1: 1600	4 200	61,8
	2 ml L + 2 ml (1: 1067)V	1: 2133	3 000	51,8
	2 ml L + 2 ml (1: 1067)V	1: 2133	3 000	51,8
10	1,5 ml L	0	0	50,0
	4 ml L + 80 µl B	1: 50	130 620	133,4
	4 ml L + 60 µl B	1: 67	97 360	114,1
	2 ml L + 2 ml (1: 50)V	1: 100	66 130	88,0
	2 ml L + 2 ml (1: 67)V	1: 133	48 920	79,1
	2 ml L + 2 ml (1: 100)V	1: 200	32 410	69,0
	2 ml L + 2 ml (1: 133)V	1: 267	24 100	62,7
	2 ml L + 2 ml (1: 200)V	1: 400	16 170	66,4
	2 ml L + 2 ml (1: 267)V	1: 533	12 100	55,6
	2 ml L + 2 ml (1: 400)V	1: 800	8 030	50,3
	2 ml L + 2 ml (1: 533)V	1: 1067	6 030	50,7
	2 ml L + 2 ml (1: 800)V	1: 1600	4 100	49,6
	2 ml L + 2 ml (1: 1067)V	1: 2133	2 980	50,7
	2 ml L + 2 ml (1: 1067)V	1: 2133	2 980	50,7
	2 ml L + 2 ml (1: 1067)V	1: 2133	2 980	50,7

Ver- such	Eingesetzte Volumina	Verdün- nung $V_B : V_L$	$\frac{\text{Ery}}{\text{mm}^3}$	Eiweiß mg/100 ml
11	6 ml L	0	0	48,0
	8 ml L + 160 μ l B	1: 50	153 000	119,7
	4 ml L + 4 ml (1: 50)V	1: 100	76 800	84,4
	4 ml L + 4 ml (1: 100)V	1: 200	46 080	54,8
	4 ml L + 4 ml (1: 200)V	1: 400	21 600	(37,3)
	4 ml L + 4 ml (1: 400)V	1: 800	11 520	48,5
	2 ml L + 4 ml (1: 800)V	1: 1200	9 600	45,1
12	3 ml L	0	0	48,0
	8 ml L + 160 μ l B	1: 50	181 600	120,2
	4 ml L + 4 ml (1: 50)V	1: 100	92 000	74,6
	4 ml L + 4 ml (1: 100)V	1: 200	50 560	58,2
	4 ml L + 4 ml (1: 200)V	1: 400	30 720	48,6
	4 ml L + 4 ml (1: 400)V	1: 800	16 000	46,6
	2 ml L + 4 ml (1: 800)V	1: 1200	8 560	45,1
13	3 ml L	0	0	49,0
	8 ml L + 120 μ l B	1: 67	119 440	128,6
	4 ml L + 4 ml (1: 67)V	1: 133	58 240	91,0
	4 ml L + 4 ml (1: 133)V	1: 267	31 000	69,7
	4 ml L + 4 ml (1: 267)V	1: 533	15 400	58,2
	4 ml L + 4 ml (1: 533)V	1: 1067	7 300	52,2
14	4,5 ml L	0	0	50,0
	8 ml L + 80 μ l B	1: 100	81 280	97,0
	4 ml L + 4 ml (1: 100)V	1: 200	44 600	74,6
	4 ml L + 4 ml (1: 200)V	1: 400	24 000	69,4
	4 ml L + 4 ml (1: 400)V	1: 800	12 800	61,6
	4 ml L + 4 ml (1: 800)V	1: 1600	6 000	56,0
	4 ml L + 4 ml (1: 1600)V	1: 3200	2 600	56,0
15	3 ml L	0	0	58,0
	8 ml L + 40 μ l B	1: 200	46 000	74,6
	4 ml L + 4 ml (1: 200)V	1: 400	23 100	(117,9)
	4 ml L + 4 ml (1: 400)V	1: 800	13 400	62,7
	4 ml L + 4 ml (1: 800)V	1: 1600	4 800	61,2
	4 ml L + 4 ml (1: 1600)V	1: 3200	2 600	58,2
16	8 ml L	0	0	66,3
	12 ml L + 180 μ l B	1: 50	154 000	128,5
	6 ml L + 6 ml (1: 50)V	1: 100	76 820	69,8
	6 ml L + 6 ml (1: 100)V	1: 200	38 400	62,2
	6 ml L + 6 ml (1: 200)V	1: 400	19 960	49,8
	6 ml L + 6 ml (1: 400)V	1: 800	10 000	40,1
	6 ml L + 6 ml (1: 800)V	1: 1600	5 100	32,3
17	3 ml L	0	0	36,9
	12 ml L + 180 μ l B	1: 75	92 700	113,0
	6 ml L + 6 ml (1: 75)V	1: 150	47 000	104,0
	6 ml L + 6 ml (1: 150)V	1: 3300	23 400	56,5
	6 ml L + 6 ml (1: 300)V	1: 600	11 600	44,4
	6 ml L + 6 ml (1: 600)V	1: 1200	5 820	38,3

3.1.3.) Abhängigkeit des IgG und des IgG: Eiweiß-Quotienten von der Menge des zugesetzten Blutes.

Die gemessenen IgG-Werte sind in Tabelle 5 als Ergebnisse von Einzelbestimmungen (Versuche 1 und 2) und als Mittelwerte von Doppel- (Versuche 3 - 5) und Dreifach-Bestimmungen (Versuche 6 - 9) angegeben.

Tab.5: Abhängigkeit des IgG und des IgG:Eiweiß-Quotienten im Liquor von der Menge des zugesetzten Blutes.

Ver-such	Verdün-nung $V_B : V_L$	Ery/3 mm ³	IgG mg/100 ml	Eiweiß mg/100 ml	10.IgG Eiweiß
1	1: 200	40 480	8,3	73,1	1,14
	1: 400	21 120	6,2	64,9	0,95
	1: 800	11 860	5,6	61,2	0,92
	0	0	4,3	61,2	0,70
2	1: 33	150 660	20,3	138,0	1,47
	1: 67	72 690	9,8	98,8	0,99
	1: 133	30 100	6,7	67,9	0,98
	1: 267	14 250	7,2	63,4	1,14
	1: 400	11 080	4,3	61,2	0,70
3	1: 50	130 620	22,5	133,4	1,69
	1: 67	97 360	13,5	114,1	(1,18)
	1: 100	66 130	11,7	88,0	1,33
	1: 133	48 920	10,2	79,1	1,29
	1: 200	32 410	9,3	69,0	1,35
	1: 267	24 100	9,2	62,7	1,47
	1: 400	16 170	7,9	66,4	(1,19)
	1: 533	12 100	7,6	55,6	1,37
	1: 800	8 030	6,6	50,3	1,31
	1: 1067	6 030	6,0	50,7	1,18
	1: 1600	4 100	5,8	49,6	1,17
	1: 2134	2 980	5,5	50,7	1,08
	0	0	5,1	50,0	1,02
4	1: 100	81 280	14,6	97,0	1,51
	1: 200	44 600	9,6	74,6	1,29
	1: 400	24 000	8,2	69,4	1,18
	1: 800	12 800	7,5	61,6	1,22
	1: 1600	6 000	5,7	56,0	1,02
	1: 3200	2 600	6,1	56,0	1,09
	0	0	6,4	50,1	(1,28)
5	1: 200	46 000	9,2	74,6	1,23
	1: 400	23 000	7,2	(117,9)	(0,62)
	1: 800	13 400	7,0	62,7	1,12
	1: 1600	4 800	6,1	61,2	1,00
	1: 3200	2 600	6,1	58,2	1,05

Ver- such	Verdün- nung $V_B : V_L$	Ery/3 mm ³	IgG mg 100 ml	Eiweiß mg 100 ml	10 IgG Eiweiß
6	1 : 50	154 000	15,0	128,5	1,17
	1 : 100	76 820	10,5	69,8	1,50
	1 : 200	38 400	7,4	62,1	1,19
	1 : 400	19 960	5,8	49,8	1,16
	1 : 800	10 000	4,8	40,1	1,20
	1 : 1600	5 100	4,9	32,2	(1,49)
7	1 : 75	92 700	13,8	113,0	1,22
	1 : 150	47 000	7,7	104,0	(0,74)
	1 : 300	23 400	5,7	56,5	1,01
	1 : 600	11 600	4,8	44,4	1,08
	1 : 1200	5 830	3,8	38,2	1,00
8	1 : 50	184 000	29,9		
	1 : 100	100 000	16,8		
	1 : 200	48 400	11,0		
	1 : 400	26 000	7,5		
	1 : 800	13 200	5,5		
	0	0	5,2		
9	1 : 67	91 800	15,1		
	1 : 133	57 500	9,4		
	1 : 267	33 400	6,7		
	1 : 533	14 800	5,5		
	1 : 1067	7 720	4,8		
	1 : 2132	2 780	3,5		
	0	0	3,6		

Da in den IgG:Eiweiß-Quotienten die Fehler der IgG- und der Eiweißbestimmung eingehen, ist hier die Streuung erwartungsgemäß größer als bei den IgG- und Eiweißwerten allein.

3.1.4.) Abhängigkeit der Glukose im Liquor von der Menge des zugesetzten Blutes.

Liquor wurde mit Blut in den Verdünnungsstufen 1:12 bis 1:100 vermischt und die Glukose gemessen. Wie Tabelle 6 zeigt, besteht auch bei sehr hohen Blutkonzentrationen keine Abhängigkeit zwischen Glukose und zugesetzter Blutmenge.

Tab. 6 : Glukosewerte im Liquor bei verschiedenen Blut-Liquor-Verdünnungen

V_L (ml)	V_B (μ l)	Verdünnung $V_B : V_L$	Glukose mg/100 ml
1	0	0	68,3
1	10	1 : 100	70,4
1	20	1 : 50	68,3
1	30	1 : 33	70,5
1	50	1 : 20	70,9
1	60	1 : 16	67,2
1	70	1 : 14	67,2
1	80	1 : 12	68,3

In den folgenden Abbildungen 1 bis 3 sind die Wertepaare der Tabellen 3 bis 5 graphisch dargestellt. Man sieht, daß sowohl die Leukozytenzahl wie auch das Gesamteiweiß und das IgG der Erythrozytenzahl direkt proportional sind. Die Linearität dieser Abhängigkeiten wird im Abschnitt 3.2. durch die hohen Werte des Korrelationskoeffizienten r bestätigt.

Abb 1: Leukozytenzahl in Abhängigkeit von der Erythrozytenzahl (Tab. 3)

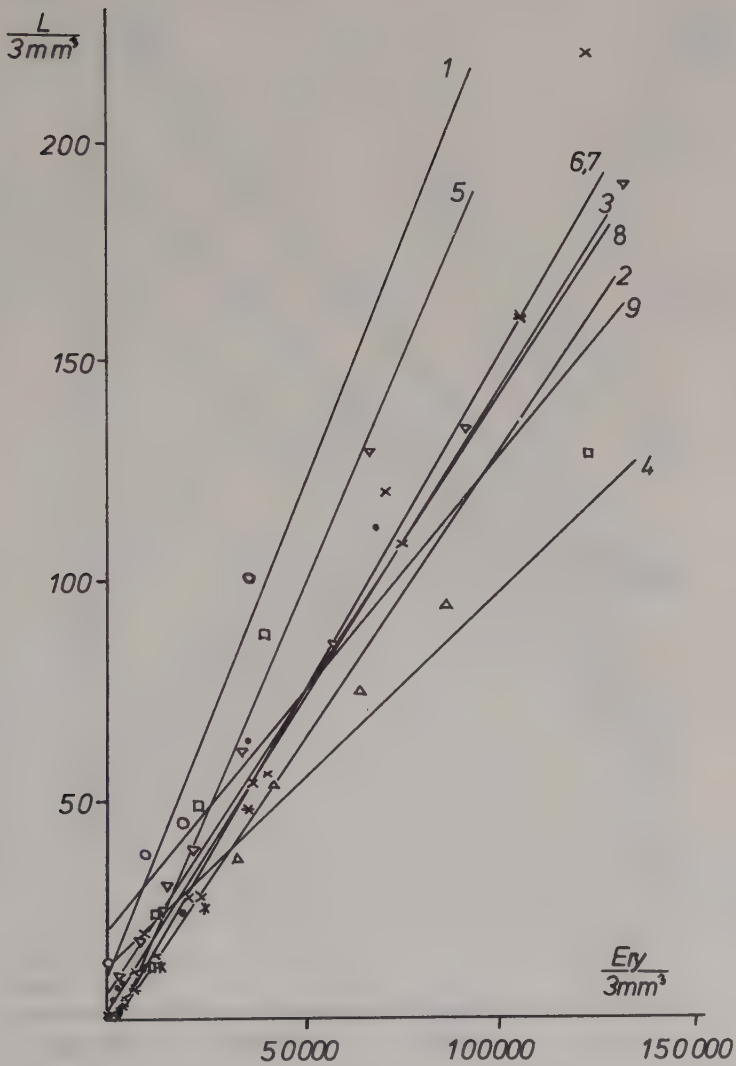


Abb 2: Gesamteiweiß in Abhängigkeit von der Erythrozytenzahl (Tab. 4)

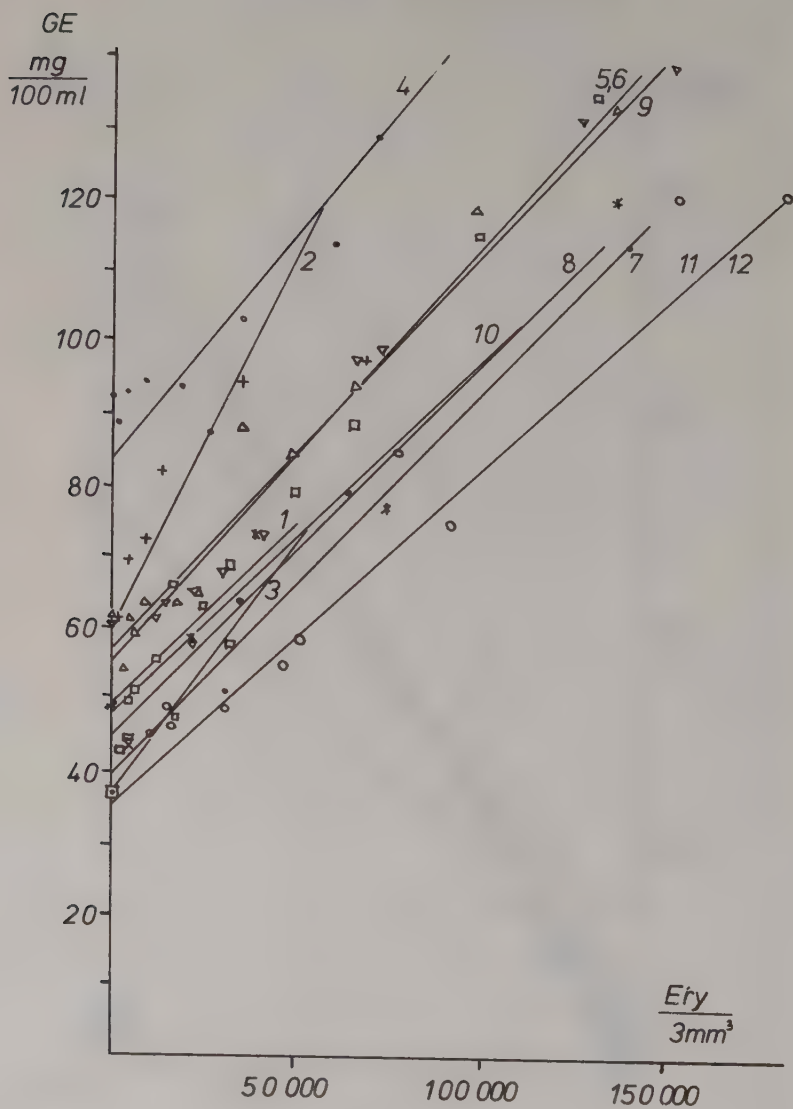
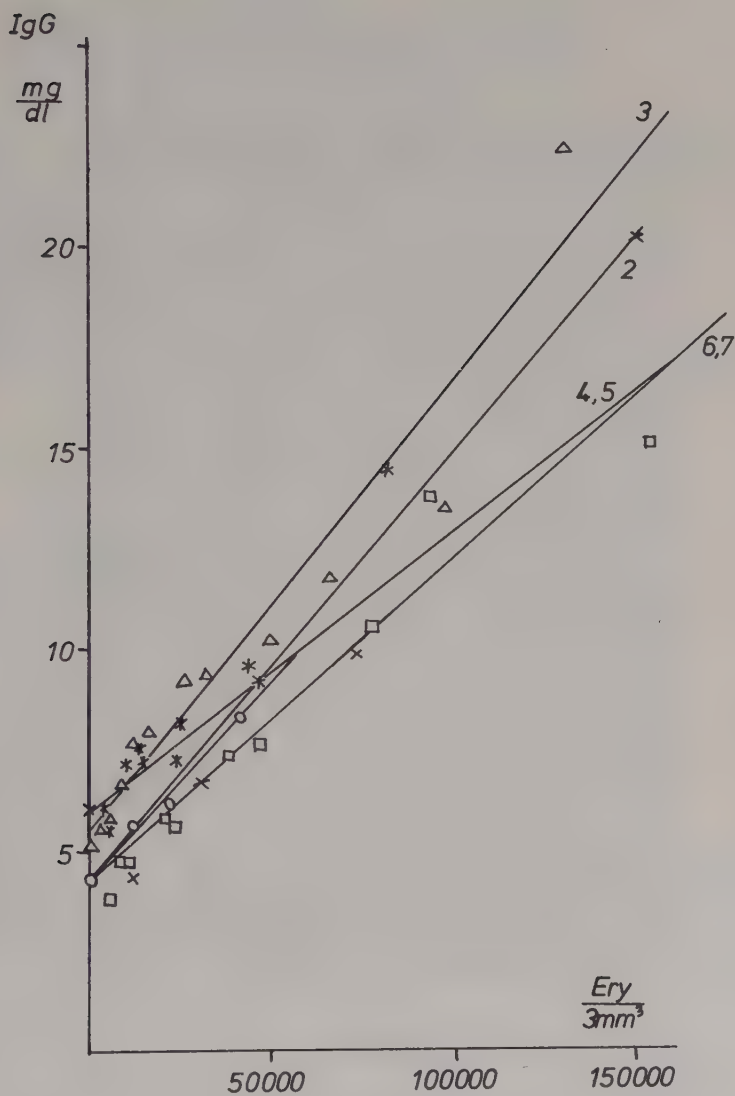


Abb 3: IgG in Abhängigkeit von der
Erythrozytenzahl (Tab. 5)



3,2.) Korrelations- und Regressionsanalyse von Leukozytenzahl, Gesamteiweiß, IgG und dem Quotienten $10 \cdot \text{IgG} / \text{Gesamteiweiß}$ in Abhängigkeit von der Erythrozytenzahl

Da sowohl die Zunahme der Leukozytenzahl als auch die Vermehrung des Gesamteiweißes, des IgG und des IgG:Eiweiß-Quotienten im Liquor durch die Zugabe definierter Mengen von Blut mit demselben peripheren Blutbild (innerhalb eines Versuchs)bedingt sind, muß bereits aufgrund theoretischer Überlegungen eine lineare Beziehung zwischen Erythrozytenzahl und Leukozytenzahl, Erythrozytenzahl und Gesamteiweiß, Erythrozytenzahl und IgG sowie Erythrozytenzahl und dem IgG:Eiweiß-Quotienten bestehen.

Um zu prüfen, ob eine Beziehung linear ist, werden die gemessenen Wertepaare einer Regressionsgeraden, die die Meßfehler mathematisch ausgleicht, angepaßt. Das Maß der Abhängigkeit wird durch den Produktmoment-Korrelationskoeffizienten r nach Bravais und Pearson (25, 38) ausgedrückt. Da die Gleichungen für die Regressionsfunktionen und den Korrelationskoeffizienten r unter der Voraussetzung abgeleitet wurden, daß jeder Wert der abhängigen Variablen normalverteilt ist, muß zunächst geprüft werden, ob die Werte der Zellzählung, der Gesamteiweiß- und IgG-Bestimmungen einer Normalverteilung gehorchen.

Dazu verwendet man den sog. χ^2 -Test. Sein Prinzip beruht darauf, daß man aus einer Reihe von Meßwerten, die man nach steigender Höhe in Klassen einteilt, eine theoretische Normalverteilung berechnet und sie mit der tatsächlichen Verteilung vergleicht. Sind die beiden Verteilungen nicht signifikant voneinander verschieden, so gilt das als Beweis, daß wirklich eine Normalverteilung vorliegt.

Tabelle 7 zeigt anhand einer 1:800-Blut-Liquor-Verdünnung, bei der jeweils 25 mal die Erythrozyten, das Gesamteiweiß und das IgG bestimmt wurden, den Arbeitsgang des χ^2 -Tests. Bei allen drei Meßreihen wurde eine Normalverteilung nachgewiesen.

IgG	Klassen- mitte $\bar{x}$	Häufig- keit B	$u = \frac{x - \bar{x}}{s}$	$\Phi(u)$	theor. Vertlge E	$\frac{(B-E)^2}{E}$
6,9(1)	6,9	1	-2,053	0,049	0,65	0,102
7,0(3)	7,0	3	-1,545	0,121	1,61	1,190
7,1(2)	7,1	2	-1,037	0,233	3,11	0,396
7,2(3)	7,2	3	-0,528	0,347	4,63	0,572
7,3(2)	7,3	2	-0,020	0,399	5,32	2,072
7,4(9)	7,4	9	0,488	0,354	4,72	3,271
7,5(3)	7,5	3	0,996	0,243	3,24	0,018
7,6(2)	7,6	2	1,504	0,129	1,72	0,647
		Σ 25			25,00	8,357

$\chi^2_{7; 0,05} = 14,07 > \sum \frac{(B-E)^2}{E} \longrightarrow$ B und E nicht
 signifikant
 voneinander
 verschieden

Ery = Erythrozytenzahl, $\bar{x}$ = Mittelwert, s = Standardabw.
 $\Phi(u)$ = Normalverteilung (aus Tabelle entnommen) (25)

Indezzahlen bei χ^2 bedeuten:

Die erste Indezzahl gibt die Anzahl der Freiheitsgrade der Verteilung an. Sie beträgt: Anzahl der Klassen minus eins.

Die zweite Indezzahl: 0,05 gibt die Irrtumswahrscheinlichkeit an, mit der gerechnet wurde, in diesem Falle 5 %.

Die Zahlen, die hinter den Meßwerten in Klammern stehen, geben an, wie oft der entsprechende Wert gemessen wurde.

Da die Normalverteilung der Meßwerte in allen drei Fällen bewiesen wurde, dürfen Regressionsgerade und der Korrelationskoeffizient r als Abhängigkeitsmaß verwendet werden.

Für den Korrelationskoeffizienten r gilt:

$$-1 \leq r \leq +1$$

Für $r = +1$, besteht ein funktioneller Zusammenhang zwischen den Wertepaaren x und y. Alle Punkte liegen auf einer Geraden.

Ist $r = 0$, so sind die Zufallsvariablen x und y unkorreliert, d.h. es besteht kein Zusammenhang zwischen ihnen.

Zwei Zustandsvariable sind umso stärker korreliert, je näher $|r|$ bei 1 liegt.

Den Wert $B = r^2$ bezeichnet man als Bestimmtheitsmaß. (25, 38). Er gibt von allen streuenden Punkten x_i, y_i den Anteil an der Gesamtstreuung an, der sich durch lineare Regression von y über x erklären läßt.

Während der Korrelationskoeffizient r ein Maß dafür ist, ob überhaupt ein Zusammenhang zwischen den Wertepaaren x_i und y_i besteht und wie stark dieser ist, beantwortet die Regressionsanalyse die Frage nach der Art dieses Zusammenhangs und, ob sich y aus x schätzen läßt. Durch die Regressionsanalyse wird einer beobachteten Punktwolke eine Funktion angepaßt. Bei unseren Meßwerten handelt es sich um den einfachsten Fall, nämlich die Gleichung einer Geraden $y = a + bx$, wobei:
 x = Erythrozytenzahl, unabhängige Variable
 y = Leukozytenzahl, Gesamteiweiß, IgG, $10 \cdot \text{IgG}$ /Gesamteiweiß, abhängige Variablen.

Die Kennzahlen der Regressionsgeraden sind der Achsenabschnitt a (entspricht dem Wert der abhängigen Variablen bei unblutigem Liquor). Die Steigung b gibt an, um wieviel die abhängige Variable zunimmt, wenn die unabhängige Variable (Erythrozytenzahl) um eine Einheit wächst und heißt Regressionskoeffizient. (25)

In den Tabellen 8 bis 11 sind die Kenngrößen der Korrelations- und Regressionsanalyse der in den Tabellen 3 bis 6 zusammengestellten und in den Abbildungen 1 bis 3 aufgetragenen Wertepaare aufgezeigt.

Tab. 8: Korrelations- und Regressionsanalyse zwischen Erythrozyten- und Leukozytenzahl.

Ver- such	Anzahl der Meßwerte	a mm ⁻³	b L/Ery	r	B=r ²
1	4	10,8	$2,36 \cdot 10^{-3}$	0,98	0,96
2	8	-2,5	$1,30 \cdot 10^{-3}$	0,98	0,96
3	8	1,8	$1,56 \cdot 10^{-3}$	0,99	0,99
4	5	13,7	$1,00 \cdot 10^{-3}$	0,95	0,90
5	6	16,5	$1,99 \cdot 10^{-3}$	0,91	0,83
6,7	16	-4,6	$1,65 \cdot 10^{-3}$	0,99	0,98
8	14	6,4	$1,46 \cdot 10^{-3}$	0,99	0,98
9	5	21,6	$1,36 \cdot 10^{-3}$	0,96	0,92

Tab. 9: Korrelations- und Regressionsanalyse
von Erythrozytenzahl und Gesamteiweiß.

Ver- such	Anzahl der Meßwerte	a	b	r	B=r ²
1	8	49,6	$4,9 \cdot 10^{-4}$	0,96	0,93
2	7	67,2	$5,5 \cdot 10^{-4}$	0,88	0,78
3,4	12	91,4	$3,4 \cdot 10^{-4}$	0,87	0,76
5,6	11	55,1	$5,7 \cdot 10^{-4}$	0,99	0,98
7	6	39,2	$5,4 \cdot 10^{-4}$	0,99	0,98
8	8	44,9	$5,3 \cdot 10^{-4}$	0,98	0,96
9	13	56,5	$5,8 \cdot 10^{-4}$	0,98	0,96
10	13	48,2	$4,9 \cdot 10^{-4}$	0,93	0,86
11-14	25	44,1	$4,9 \cdot 10^{-4}$	0,96	0,94
15	11	58,1	$3,6 \cdot 10^{-4}$	0,99	0,98
16	16	53,6	$5,1 \cdot 10^{-4}$	0,97	0,94
17	22	36,8	$6,9 \cdot 10^{-4}$	0,94	0,89

Tab. 10: Korrelations- und Regressionsanalyse
von Erythrozytenzahl und IgG.

Ver- such	Anzahl der Meßwerte	a	b	r	B=r ²
1,2	11	4,28	$1,0 \cdot 10^{-4}$	0,98	0,96
3	13	5,60	$1,1 \cdot 10^{-4}$	0,97	0,94
4,5	24	5,97	$0,7 \cdot 10^{-4}$	0,91	0,83
6,7	39	4,23	$0,8 \cdot 10^{-4}$	0,98	0,96
8,9	36	3,38	$1,4 \cdot 10^{-4}$	0,99	0,98

Tab. 11: Korrelations- und Regressionsanalyse
von Erythrozytenzahl und dem Quotienten
10 IgG/Gesamteiweiß.

Ver- such	Anzahl der Meßwerte	a	b	r	B=r ²
1,2	11	0,84	$4,0 \cdot 10^{-6}$	0,81	0,66
3	13	1,17	$3,8 \cdot 10^{-6}$	0,81	0,66
4,5	24	1,15	$3,7 \cdot 10^{-6}$	0,57	0,33
6,7	36	1,10	$3,2 \cdot 10^{-6}$	0,78	0,61

a = Achsenabschnitt = auf 0 Erythrozyten extra-
polierter Wert

b = Regressionskoeffizient

r = Korrelationskoeffizient

r² = B = Bestimmtheitsmaß

* : Versuche, bei denen vom selben Mischliquor
ausgehend mit der gleichen Blutprobe gearbei-
tet wurde, wurden hier zusammengefaßt.

Die hohen Werte des Korrelationskoeffizienten r , die bei der Abhängigkeit der Leukozytenzahl, des Gesamteiweißes und des IgG von der Erythrozytenzahl in fast allen Fällen über 0,9 liegen, zeigen, daß sich die Beziehungen dieser Wertepaare durch eine Gerade sehr gut beschreiben lassen.

3.3.) Veränderungen der Befunde im Verlauf der Zeit nach der Entnahme des Liquors.

3.3.1.) Abhängigkeit der Erythrozyten- und Leukozytenzahl sowie des Gesamteiweißes von der Zeit zwischen Punktion und Messung.

In bestimmten Blut-Liquor-Verdünnungen (1:100, 1:133, 1:200, 1:500) wurden sofort nach Blutzugabe (Zeit 0) und anschließend alle paar Stunden die Erythrozyten und Leukozyten gezählt sowie das Gesamteiweiß bestimmt. Diese Messungen wurden sowohl bei 4°C wie auch bei 25°C durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen 12 - 14 zusammengefaßt. Man sieht, daß die Zellzahl mit der Zeit exponentiell abnimmt (Abb. 4). Das Eiweiß dagegen steigt mit der Zeit an und nähert sich asymptotisch einem Grenzwert, der dem Eiweißgehalt aller dem Liquor zugesetzten Zellen entspricht.

Die ersten morphologischen Veränderungen der Zellen traten bei den Erythrozyten schon nach zwei Stunden auf (Stechapfelformen und andere Deformierungen), während die Leukozyten nach etwa 6 - 8 Stunden begannen, ihre Form zu verändern.

Tab. 12: Einfluß der Zeit zwischen Punction und Messung auf die Erythrozyten- und Leukozytenzahl sowie das Gesamteiweiß bei 25°C

Meßreihe	V _B :V _L	Zeit Stdn	Ery/3 mm ⁻³	L/3 mm ⁻³	Eiweiß mg/100	Eiweiß ml
1	1: 0	0	0	10	36,1	36,1
	0	0	0	10	36,1	36,1
	0	0	0	10	36,1	36,1
	0	1	0	10	39,4	40,3
	0	1			41,2	
		2	0	10	32,9	32,9
	0	2			32,9	
	0	4	0	8	45,3	45,3
	0	8	0	6	47,1	47,1
	0	12	0	8	48,4	48,4
1	1:200	0	49 760	60	53,9	56,0
	1:200	0			53,2	
	1:200	1	46 100	55	63,7	61,9
	1:200	1			60,0	
	1:200	2	43 680	34	61,9	60,0
	1:200	2			58,1	
	1:200	4	(37 920)	(40)	62,3	62,3
	1:200	4			62,3	
	1:200	8	40 000	48	72,8	70,7
	1:200	8			68,6	
	1:200	12	39 000	48	70,4	70,4
2	0	0	0	1	37,3	37,3
	0	1	0	1	37,2	37,3
	0	6	0	0	37,3	37,3
2	1:100	0	77 520	79	79,1	79,6
	1:100	0			80,2	
	1:100	1	78 440	84	78,3	78,3
	1:100	1			78,3	
	1:100	6	78 400	80	80,2	79,3
	1:100	6			78,3	
	1:100	8	77 760	80	79,2	79,2
	1:100	26	78 000	68	80,2	79,6
	1:100	26			79,0	
3	0	0	0	10	60,9	60,9
	0	2	0	7	(70,9)	
	0	8	0	8	66,4	66,4
	0	22	0	6	64,7	64,7
	0	32	0	0	62,7	62,7
					62,7	
3	1:500	0	17 600	35	64,3	64,7
	1:500	0			65,1	
	1:500	1	17 320	33	67,1	65,5
	1:500	1			64,2	
	1:500	2	17 800	26	60,0	60,4
	1:500	2			60,7	
	1:500	4	17 000	30	67,9	66,3
	1:500	4			64,9	
	1:500	8	17 600	34	67,1	67,5
	1:500	8			67,9	
	1:500	32	15 400	26	71,6	70,5
	1:500	32			69,4	

Meß- reihe	V _B :V _L	Zeit Std	Ery/3 mm ³	L/3 mm ³	Eiweiß mg/100 ml	Eiweiß
4	0	0	0	5	66,4	66,4
	0	0	0		66,4	
	0	1	0	6	62,3	62,9
	0	1			63,5	
	0	5	0	4	66,0	66,0
	0	5			66,0	
	0	10	0	4	68,6	68,6
	0	20	0	2	71,6	71,6
	0	30	0	0	70,6	70,6
4	1:200	0	42 400	123	83,2	83,3
	1:200	0			82,8	
	1:200	1	44 120	117	(96,2)	
	1:200	5	41 120	96	88,8	87,9
	1:200	5			87,0	
	1:200	10	35 700	--	89,5	89,9
	1:200	10			90,3	
	1:200	20	33 920	91	93,1	92,1
5	1:100	0	87 040	197	103,7	104,5
	1:100	0			104,4	
	1:100	0			104,4	
	1:100	0			105,6	
	1:100	1	88 720	209	101,5	101,5
	1:100	5	83 000	200	112,0	105,2
	1:100	5			110,1	110,1
	1:100	10	73 000	176	114,1	114,1
	1:100	20	68 100	165	112,0	112,0
	1:100	30	65 210	120	116,0	116,0
	1:100					

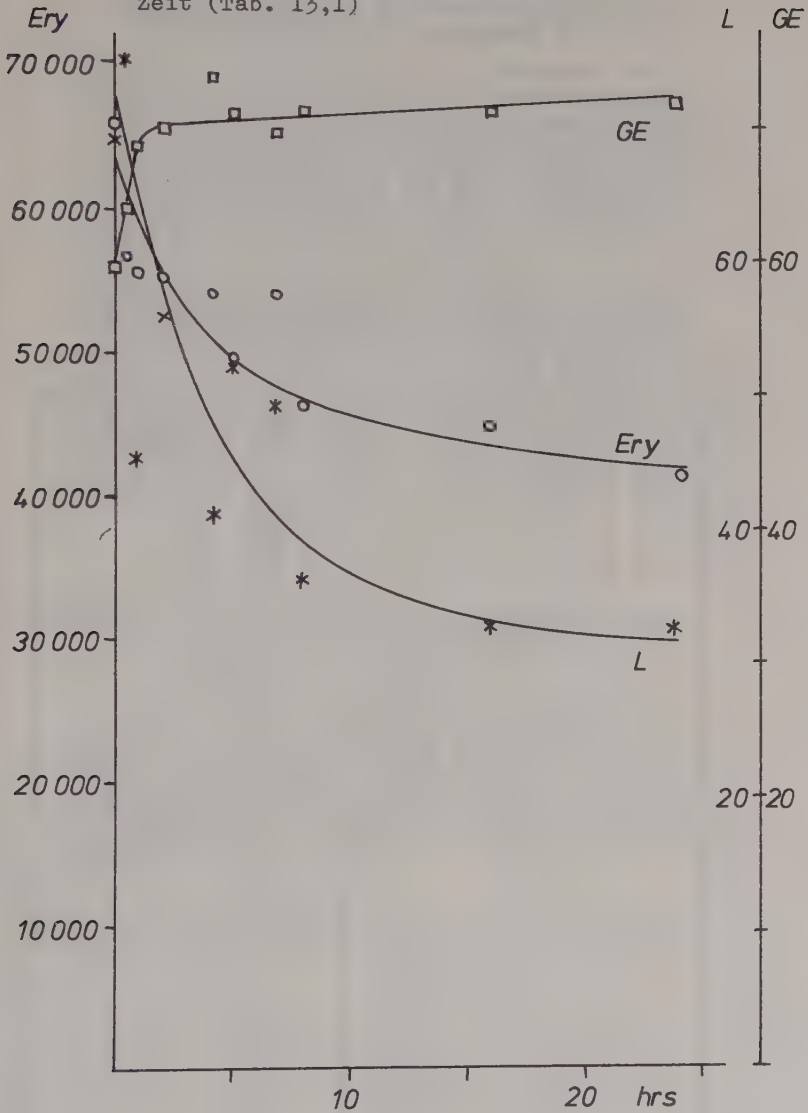
Tab. 13: Einfluß der Zeit zwischen Punktion und Messung auf die Erythrozyten- und Leukozytenzahl sowie das Gesamteiweiß bei 4°C. Die Werte sind Mittelwerte von jeweils drei Messungen.

Meßreihe	V _B : V _L	Zeit Stdn	Ery/3 mm ⁻³	L/3 mm ⁻³	Eiweiß mg/100ml
1	1 : 133	0	65 600	84	59,7
	1 : 133	0,5	56 370	91	64,1
	1 : 133	1	55 230	55	68,9
	1 : 133	2	55 000	68	70,0
	1 : 133	4	53 780	64	73,8
	1 : 133	5	49 340	63	70,8
	1 : 133	7	54 000	60	69,5
	1 : 133	8	46 100	44	71,2
	1 : 133	16	44 760	40	71,2
2	1 : 133	24	41 230	4	72,1
	0	0	0	0	55,2
	0	0,5	0	0	54,6
	0	1	0	0	58,5
	0	2	0	0	57,7
	0	6	0	0	58,1
	0	20	0	0	54,4
	0	76	0	0	51,2
	0	76	0	0	51,2
2	1 : 100	0	78 390	126	87,1
	1 : 100	0,5	81 230	119	86,3
	1 : 100	1	76 720	115	84,3
	1 : 100	2	76 160	87	87,3
	1 : 100	3	78 600	79	80,9
	1 : 100	4	76 320	74	84,1
	1 : 100	6	75 840	75	93,5
	1 : 100	20	68 160	75	90,8
	1 : 100	24	65 780	73	88,1
	1 : 100	42	64 600	72	95,2
	1 : 100	76	58 700	60	103,0
	1 : 100	140	38 040	32	119,7
	1 : 100	140	38 040	32	119,7

Tab. 14: Zusammenstellung der relativen Veränderungen von Erythrozyten- und Leukozytenzahl sowie Gesamteiweiß mit der Zeit

Meßreihe	Temp.	V _B : V _L	Abnahme der Erythr./Zeit	Abnahme der Leukoz./Zeit	Zunahme d. GE/Zeit
1	25°C	0	-	-	+34%/12 h
1	25°C	1: 200	-22%/12 h	-20%/12 h	+26%/12 h
2	25°C	0	-	-	-
2	25°C	1: 100	-	-	-
3	25°C	0	-	-	+3%/32 h
3	25°C	1: 500	-13%/32 h	-26%/32 h	+9%/32 h
4	25°C	0	-	-	+6%/30 h
4	25°C	1: 200	-20%/20 h	-26%/30 h	+11%/30 h
5	25°C	1: 100	-25%/30 h	-40%/30 h	+11%/30 h
1	4°C	1: 133	-37%/24 h	-52%/24 h	+21%/24 h
2	4°C	0	-	-	-7%/76 h
2	4°C	1: 100	-15%/24 h	-44%/24 h	+8%/24 h
			-51%/140h	-75%/140h	+38%/140h

Abb 4: Erythrozyten- und Leukozytenzahl und Gesamteiweiß in Abhängigkeit von der Zeit (Tab. 13,1)



Ery = Erythrozyten, L = Leukozyten, ($1/\text{mm}^3$)
 GE = Gesamteiweiß (mg/dl)

3.3.2.) Einfluß der Zeit zwischen Punktion und Messung auf die IgG-Bestimmung.

In zwei Meßreihen wurden die IgG-Konzentrationen in Abhängigkeit von der Zeit zwischen Punktion und Messung gemessen. Die Blut-Liquormischungen wurden bei 25°C in geschlossenen Polyäthylengefäßen aufbewahrt. Die Bestimmungen, die in der Tabelle 15 aufgeführt sind, ergaben, daß sich die IgG-Werte mit der Zeit nicht signifikant ändern.

Tab. 15: IgG-Werte von blutigem und unblutigem Liquor zu verschiedenen Zeiten nach der Punktion. Wie man sieht, sind die IgG-Werte unabhängig von der Zeit und streuen um die Mittelwerte 3,4; 9,6 und 5,7.

Meßreihe	Zeit Stdn	$V_B : V_L$	IgG mg/100 ml	$\overline{\text{IgG}}$ mg/100 ml
1	0	0	2,6	3,4
	0	0	3,8	
	6	0	3,1	
	6	0	3,3	
	8	0	3,7	
	8	0	3,7	
	0	1 : 100	9,2	9,6
	0	1 : 100	10,6	
	1	1 : 100	8,6	
	1	1 : 100	9,0	
	6	1 : 100	9,1	
	6	1 : 100	9,9	
	8	1 : 100	9,9	
	8	1 : 100	10,2	
2	0	0	5,7	5,7
	1	0	6,5	
	2	0	5,6	
	4	0	5,6	
	0	1 : 500	5,7	5,7
	1	1 : 500	6,0	
	1	1 : 500	6,2	
	1	1 : 500	6,2	
	2	1 : 500	5,4	
	2	1 : 500	5,6	
	4	1 : 500	5,4	
	4	1 : 500	5,6	
	8	1 : 500	5,4	
	8	1 : 500	5,6	
	8	1 : 500	5,6	
	8	1 : 500	5,8	

3.3.3.) Glukosegehalt im Liquor in Abhängigkeit von der Zeit zwischen Punktion und Messung

Von zwei Patienten wurde im zellfreien und im Verhältnis 1:100 mit Blut vermischten Liquor unmittelbar nach der Punktion und 72 Stunden später die Glukose bestimmt. Wie die Werte der Tabelle 16 zeigen, nimmt der Glukosegehalt in allen Fällen um ca. 8 - 10 % ab. Gleichzeitig wurde auch der p_H -Wert gemessen.

Tabelle 16: Glukose im unblutigen und im arteriell blutigen Liquor in Abhängigkeit von der Zeit zwischen Punktion und Messung

Patient	$V_B : V_L$	Zeit Stdn	Glukose mg/100 ml	p_H
1	0	0	62,5	7,52
1	0	72	57,7	8,40
1	1 : 100	0	60,0	7,52
1	1 : 100	72	56,2	8,35
2	1 : 100	0	60,9	7,50
2	1 : 100	72	55,1	8,50

3.3.4.) Beeinflussung des p_H -Wertes im Liquor durch die Zeit zwischen Punktion und Messung.

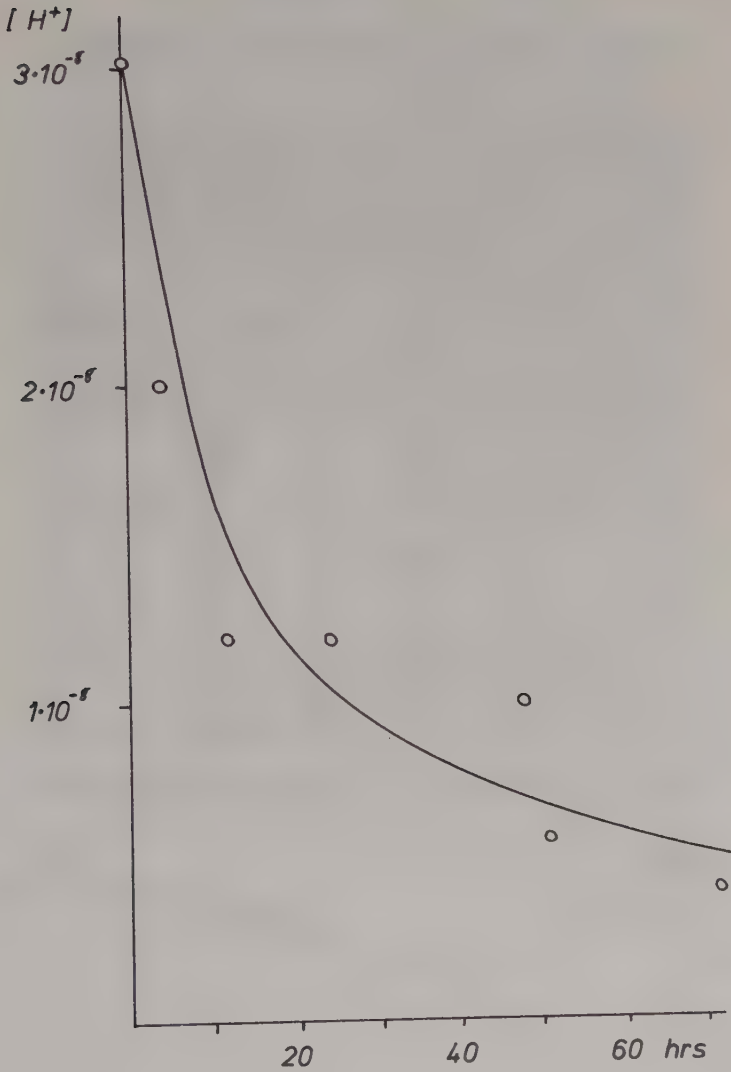
In den Liquores von drei Patienten wurde der p_H -Wert vom Augenblick der Punktion über drei Tage in seinem Zeitverlauf verfolgt. In Tabelle 17 und in Abbildung 5 sind die Ergebnisse aufgetragen. Man erkennt bei allen drei Liquorproben eine exponentielle Abnahme der H^+ -Ionenkonzentration.

Tab. 17: p_H -Wert in verschiedenen Liquorproben
in Abhängigkeit von der Zeit zwischen
Punktion und Messung.

Patient	Zeit Stdh	p_H	$\frac{L}{3}$ mm ³	Glukose mg/100 ml	Eiweiß mg/100 ml
1	0	7,52	4	63,5	28,7
	4	7,70			
	24	7,92			
	48	8,00			
	51	8,25			
	72	8,40			
2	2	7,55	15	63,0	33,2
	22	7,72			
	46	7,85			
	49	7,92			
	72	8,20			
3	0	7,50	2	55,0	26,1
	3	7,76			
	23	7,88			
	47	7,98			
	50	8,00			
	72	8,50			

L = Leukozyten

Abb 5: Abhängigkeit der H-Ionenkonzentration
von der Zeit (Tab. 17,1)



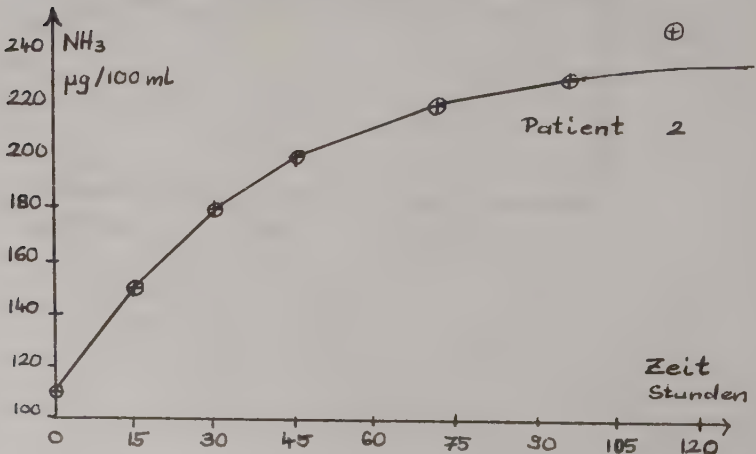
3.3.5.) Ammoniakgehalt im Liquor in Abhängigkeit von der Zeit zwischen Punktion und Messung.

Von drei Patienten wurde der Ammoniakgehalt im Liquor, der normalerweise etwa 100 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ beträgt (23), in seinem zeitlichen Verlauf bestimmt. Tabelle 18 und Abbildung 6 zeigen, daß der Ammoniakgehalt ansteigt und folglich als Ursache für die Abnahme der H^+ -Ionenkonzentration in Frage kommt.

Tab. 18: Ammoniakgehalt im Liquor in Abhängigkeit von der Zeit zwischen Punktion und Messung.

Patient	Zeit/ h	Ammoniak $\frac{\mu\text{g}}{100\text{ ml}}$
1	0	150
	96	250
	120	290
2	0	110
	15	150
	30	180
	45	200
	72	220
	96	230
	120	250
3	0	140
	72	200

Abb.6: Ammoniakgehalt im Liquor in Abhängigkeit von der Zeit zwischen Punktion und Messung.



3.3.6.) Beeinflussung der Haltbarkeit der Zellen im Liquor durch dessen p_H -Wert.

Je 12 ml Liquor ($p_H = 7,78$) wurden mit Acetatpuffer ($p_H = 6,4$), Boratpuffer ($p_H = 7,0$), Phosphatpuffer ($p_H = 9,0$) bzw. 0,1 n Natronlauge auf die p_H -Werte 7,0, 7,5, 8,0, 8,5 und 9,0 eingestellt, anschließend mit je 60 μ l Blut (peripheres Blutbild: 9700 Leukozyten/ mm^3 und $4,16 \cdot 10^6$ Erythrozyten/ mm^3) vermischt und in den so hergestellten 1:200-Verdünnungen die Erythrozyten und Leukozyten gezählt sowie das Gesamteiweiß in Abhängigkeit von der Zeit bestimmt.

In Tabelle 19 und in Abbildung 7 wird deutlich, daß in allen Fällen die Zellzahlen exponentiell abnehmen, während das Eiweiß entsprechend ansteigt. Diese Veränderungen, die ohne Rücksicht auf den p_H -Wert in den Tabellen 12-14 und der Abbildung 4 (S. 32) bereits dargestellt sind, treten beim "physiologischen" p_H -Wert von 7,5 am langsamsten ein (Abnahme der Erythrozytenzahl in 10 Tagen auf 33 % des Ausgangswertes), etwas rascher bei den benachbarten p_H -Werten 7,0 und 8,0 (Abnahme der Erythrozytenzahl in 10 Tagen auf 31 bzw. 22 %), am schnellsten im alkalischen Bereich bei p_H -Werten von 8,5 bzw. 9,0 (Abnahme der Erythrozytenzahl in 10 Tagen auf 8 bzw. 6 %).

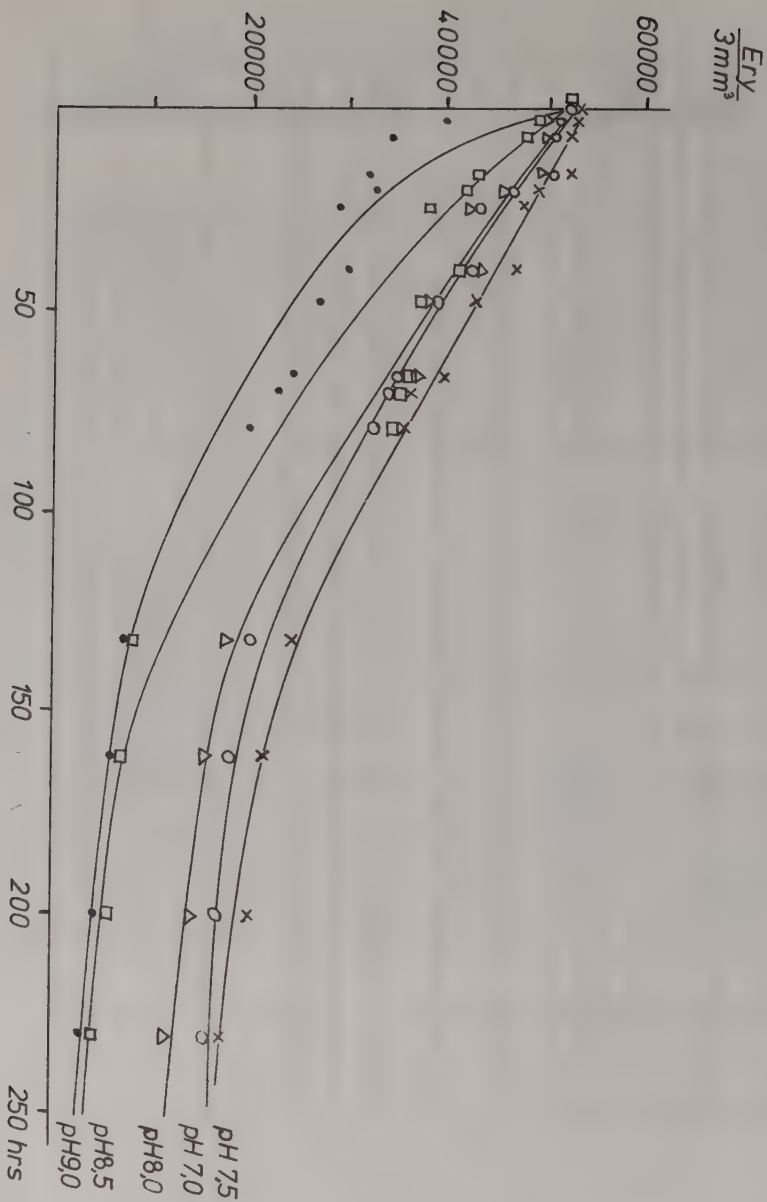
Daß die Zellen sich bei diesen Experimenten länger hielten als sonst in blutigem Liquor, beruht darauf, daß wir die Alkalisierung des Liquors durch freigesetzten Ammoniak verhinderten, indem wir alle 5 Stunden den p_H -Wert mit Puffern wieder auf den ursprünglichen Wert einstellten.

Tab. 19: Haltbarkeit der Zellen im Liquor
in Abhängigkeit vom p_H -Wert.

p_H	Zeit Stdn	$\frac{E_1/3}{mm^3}$	$\frac{E}{E_0}(\%)$	$\frac{L/3}{mm^3}$	$\frac{L}{L_0}(\%)$	Eiweiß mg/100 ml
7,0	0	52 400	100	118	100	44,0
7,5	0	52 800	100	116	100	44,0
8,0	0	52 600	100	116	100	44,0
8,5	0	52 600	100	119	100	44,0
9,0	0	52 600	100	115	100	44,0
7,0	2	51 200	98	115	97	
7,5	2	52 800	100	117	100	
8,0	2	50 000	95	113	97	
8,5	2	49 200	94	115	97	
9,0	2	39 600	75	110	96	
7,0	6	50 600	97	115	97	
7,5	6	52 200	99	115	99	
8,0	6	51 600	98	114	98	
8,5	6	48 200	92	112	94	
9,0	6	34 400	66	108	94	
7,0	16	47 200	90	110	93	
7,5	16	52 600	99	112	97	
8,0	16	49 600	94	108	93	
8,5	16	36 600	70	103	87	
9,0	16	32 000	61	100	87	
7,0	20	46 800	89	112	95	
7,5	20	48 800	92	110	95	
8,0	20	46 400	88	110	95	
8,5	20	36 400	69	108	91	
9,0	20	33 000	63	102	89	
7,0	24	43 200	82	108	92	50,0
7,5	24	47 400	90	110	95	50,4
8,0	24	43 600	83	105	91	52,0
8,5	24	38 000	72	106	89	55,0
9,0	24	29 200	56	110	87	60,7

p _H	Zeit Stdn	Ery/3 mm	E E _n (%)	L/3 mm	L L _n (%)	Eiweiß mg/100 ml
7,0	40	42 600	81	100	85	
7,5	40	47 000	89	111	96	
8,0	40	43 200	82	102	88	
8,5	40	38 000	72	89	75	
9,0	40	30 000	57	70	61	
7,0	48	38 800	74	94	80	53,2
7,5	48	43 200	82	103	89	53,0
8,0	48	38 600	73	98	84	55,4
8,5	48	38 200	73	80	67	55,5
9,0	48	27 600	52	66	57	63,1
7,0	66	35 000	67	82	69	
7,5	66	39 800	75	90	78	
8,0	66	37 100	70	83	72	
8,5	66	36 400	69	71	60	
9,0	66	24 600	47	52	45	
7,0	70	34 400	65	80	68	
7,5	70	36 900	70	85	73	
8,0	70	36 500	69	80	68	
8,5	70	36 100	69	69	58	
9,0	70	22 800	43	48	42	
7,0	80	33 000	63	76	64	58,0
7,5	80	36 300	69	81	70	55,2
8,0	80	36 100	69	75	65	57,3
8,5	80	35 400	67	63	53	62,6
9,0	80	20 000	38	41	36	68,9
7,0	140	20 100	38	52	44	78,0
7,5	140	24 300	46	56	49	72,3
8,0	140	17 700	34	48	41	75,8
8,5	140	8 200	16	25	21	83,6
9,0	140	7 600	14	17	15	85,1
7,0	160	18 000	34	47	40	
7,5	160	21 500	41	41	35	
8,0	160	15 800	30	43	37	
8,5	160	7 300	14	22	18	
9,0	160	6 700	13	15	12	
7,0	200	17 000	32	44	37	
7,5	200	19 900	38	39	34	
8,0	200	14 600	27	38	33	
8,5	200	5 700	11	18	15	
9,0	200	4 300	8	7	6	
7,0	230	16 100	31	38	32	
7,5	230	17 500	33	33	28	
8,0	230	11 700	22	31	27	
8,5	230	4 400	8	14	12	
9,0	230	3 200	6	3	3	

Abb. 7: Beeinflussung der Stabilität der Erythrozyten im artefiziell blutigen Liquor durch den pH-Wert (Tab. 19)



4.) Diskussion.

4.1.) Unterscheidung zwischen alter, pathologischer und frischer, artefizieller Blutung im Liquor.

Wie schon in der Einleitung erwähnt, beschäftigen sich viele Veröffentlichungen mit den Möglichkeiten, pathologische von artefiziellen Blutungen zu unterscheiden. Abgesehen vom Nachweis von Erythrophagen, die eine Reaktion des lebenden Organismus darstellen und so eine Blutung in den Liquorraum beweisen, beruhen die Unterscheidungen aufgrund von Färbung, Gerinnbarkeit und Nachweis von freiem Hämoglobin im Zentrifugationsüberstand auf dem Alter der Blutung, d.h. der Verweildauer der Erythrozyten und des Plasmas im Liquor.

Die fehlende Gerinnung bei länger zurückliegenden Blutungen beruht darauf, daß das in den Liquor eingedrungene Fibrinogen offenbar in den Liquorräumen abgebaut wird (29). Bei den künstlich hergestellten Blut-Liquor-Mischungen, die als Modell für artefiziell blutigen Liquor dienten, trat bei Verdünnungen von mehr als 1:50, d.h. mehr als 150 000/3 Erythrozyten/mm³ in fast allen Fällen spontane Gerinnung ein.

Die Xanthochromie des Zentrifugationsüberstandes, die von vielen Autoren als Zeichen für eine Subarachnoidalblutung angesehen wird (5, 28, 30), tritt, wie wir an unseren künstlich erzeugten Blut-Liquor-Mischungen beobachtet haben, ebenfalls auf, sofern nur die Blutbeimengung groß genug ist (mindestens 1:400) und die Blut-Liquor-Mischung lange genug (mindestens 4 Stunden) stehen bleibt. Xanthochromer Liquor bedeutet also nur, daß Erythrozyten längere Zeit in ihm verweilt haben, ist aber kein Beweis für eine vorausgegangene Blutung in die Liquorräume. Dies stimmt mit den Beobachtungen von Samson (26) überein.

Schlack (29), der sich mit blutigem Liquor von Neugeborenen beschäftigte, und für den die Gelbfärbung des Liquors schon wegen des Neugeborenen-Ikterus nicht als differentialdiagnostisches Merkmal in Frage kam, empfahl die Benzidinprobe: Er stützte mit Autopsiebefunden und Beobachtung klinischer Verläufe die Be-

hauptung, daß eine negative Benzidinprobe auch bei artefiziell blutigem Liquor eine Subarachnoidalblutung ausschlosse. Da Benzidin als kanzerogene Substanz in der Liquordiagnostik nicht mehr verwendet wird, konnte diese Behauptung nicht nachvollzogen werden. Die heute übliche o-Toluidin-Probe, auf der die Wirkungsweise der Hämoxitix-Streifen und anderer Schnelltests auf Blut beruhen, ist so empfindlich, daß sie auch bei frisch angesetzten und sofort zentrifugierten Blut-Liquor-Mischungen stets positiv ausfällt.

Eine Veränderung der Morphologie der Erythrozyten, wie zum Beispiel Stechapfel- oder Igelformen, die von einigen Autoren als Zeichen für eine Subarachnoidalblutung angesehen werden, läßt nach Dufresne (9) keine Rückschlüsse auf die Art der Blutung - pathologisch oder artefiziell - zu. Wir konnten diese Behauptung insofern bestätigen, als wir in unseren Blut-Liquor-Gemischen nach ca. 4 Stunden erste Stechapfelformen der Erythrozyten fanden. Zur gleichen Zeit beobachteten wir eine leichte Gelbfärbung des Zentrifugationsüberstandes. Für die Praxis bedeutet das, daß bei Liquores, die bereits unmittelbar nach der Punktion deformierte Erythrozyten und xanthochrome Zentrifugationsüberstände aufweisen, mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit eine Blutung in die Liquorräume stattgefunden hat. Wird der Liquor jedoch nicht in den ersten 3 bis 4 Stunden nach der Punktion aufgearbeitet, kann man eine artefizielle Blutung nicht mehr von einer Subarachnoidalblutung unterscheiden.

4.2.) Beeinflussung der Leukozytenzahl im Liquor durch artefizielle Blutbeimengung.

Über die Veränderung der Leukozytenzahl im Liquor durch artefizielle Blutungen liegen keine experimentellen Untersuchungen vor. Da aber im allgemeinen das Verhältnis der Leukozyten zu den Erythrozyten im Blutbild etwa 1:750 beträgt, wird von vielen Autoren (7, 20, 28, 30, 39) empfohlen, bei artefiziell blutigem Liquor 1-2 Leukozyten pro 1000 gezählter Erythrozyten abzuziehen, um die "wahre" Leukozytenzahl zu erhalten.

Unsere statistische Auswertung der Erythrozyten- und Leukozytenzählung bestätigt diese Faustregel insofern, als der Mittelwert der Steigungen

der Regressionsgeraden $1,6 \pm 0,4$ (95% Vertrauensbereich) Leukozyten pro 1000 gezählter Erythrozyten beträgt. Die relativ breite Verteilung dieses Quotienten beruht auf dessen physiologischen Schwankungen im peripheren Blutbild. Die Übereinstimmung mit dem entsprechenden Spenderblutbild wurde in drei Fällen nachgeprüft (Tab 3). Obwohl bei allen Meßreihen das Blut desselben Spenders verwendet wurde, ist das Verhältnis zwischen Erythrozyten- und Leukozytenzahl sehr unterschiedlich.

Legt man Wert auf sehr genaue Zellzahlen, so sollte man den Quotienten aus dem jeweiligen Blutbild des Patienten berechnen.

Die sehr hohen Werte des Korrelationskoeffizienten $r = 0,97 \pm 0,06$ (95 % Vertrauensbereich) bestätigen die funktionelle Abhängigkeit der Leukozytenzahl im Liquor von der Erythrozytenzahl. Die Abweichungen des r-Wertes von 1,0 kommen durch Zähl- und Verdünnungsfehler zustande und wurden dadurch sehr klein gehalten, daß man aus jeweils zwei Zählungen den Mittelwert bildete.

4.3.) Beeinflussung des Liquorzytogramms durch pathologische und artefizielle Blutbeimengungen.

Olischer und Suchodoletz (20) untersuchten fast 500 blutige Liquores und stellten eine Häufigkeitsverteilung nach dem Erythrozytengehalt auf. Diese zeigt, daß in den meisten Fällen nur sehr geringe Blutbeimengungen vorliegen, so daß die quantitativen Zellveränderungen sowie die Beeinflussung des Eiweißes als Unterscheidungsmerkmal zwischen pathologischer und artefizieller Blutung nicht in Frage kommen.

Dagegen wird das Liquorzytogramm bereits durch geringe Blutbeimengungen (ab 30/3 Erythrozyten/mm³) verschoben. Bei einer artefiziellen Blutung addieren und überlagern sich die Verhältnisse des peripheren Differentialblutbildes dem Liquorzytogramm, so daß je nach Höhe der Blutbeimengung ein entsprechendes Mischzytogramm resultiert.

Bei Subarachnoidalblutungen findet man neben dem reinen Mischeffekt zusätzlich spezifische Zeichen einer leptomeningealen Reizung.

Sayk (27) wertet eine relative Granulozytose selbst bei noch normaler Leukozytenzahl bereits als Ausdruck einer meningealen Reizung durch die Blutung. Olischer und Suchodoletz weisen jedoch

darauf hin, daß eine granulozytäre Pleozytose schon durch die meningeale Irritation bei der Punktion verursacht werden kann, auch ohne daß es vorher in die Liquorräume hineingeblutet hat. Dies gilt auch für die Liquores, die bei der Durchführung einer Myelographie (31) oder eines Luftenzephalogramms (32) entnommen werden.

Als spezifischere Möglichkeit, eine Subarachnoidalblutung nachzuweisen, sehen die Autoren neben dem Nachweis von Erythrophagen eine Erhöhung der unspezifischen Esterase in den monohistiozytären Zellen, welche mit speziellen Färbemethoden dargestellt werden kann.

4.4.) Beeinflussung des Gesamteiweißes im Liquor durch artefizielle Blutbeimengungen.

Wüllenweber (39) untersuchte den Einfluß artefizieller Blutbeimengungen auf die halbquantitativen und sehr subjektiven Methoden der Eiweißbestimmung nach Pandy, Weichbrodt und Nonne und fand, daß sie bei einer Volumenverdünnung Blut: Liquor = 1:160 (Pandy) bzw. 1:80 (Nonne, Weichbrodt) pathologisch positiv ausfielen.

Samson (26) bestimmte die Proteine mit der besser reproduzierbaren $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Fällungsmethode nach Kafka und stellte zwischen Eiweißgehalt (in Kafka-Einheiten) und Erythrozytenzahl in einer Meßreihe mit fünf verschiedenen Blut-Liquor-Verdünnungen eine annähernd lineare Beziehung fest.

Am ausführlichsten beschäftigte sich G.Colberg (5) im Rahmen ihrer Dissertation mit dem Einfluß artefizieller Blutbeimengungen auf den Eiweißgehalt im Liquor. Sie verwendete die Fällungsmethode nach Kafka sowie die von Steger entwickelte Bromphenolblau-Methode und die spektrometrische Messung im UV-Bereich. Da sie bei jeder Blut-Liquor-Verdünnung den Liquor eines anderen Patienten verwendete, und an jeder dieser Proben dann das Eiweiß nach Kafka, mittels Bromphenolblau-Methode und UV - Messung bestimmte, konnte sie zwar die Ergebnisse dieser drei Methoden miteinander vergleichen, aber keine Korrelations- und Regressionsanalyse

zwischen Erythrozytenzahl und Eiweißgehalt aufstellen.

Deshalb und auch, weil mit der Biuretmethode inzwischen ein genaueres Verfahren der Eiweißbestimmung zur Verfügung steht, gingen wir dem Zusammenhang zwischen Erythrozytenzahl und Gesamteiweiß anhand von 17 Meßreihen mit insgesamt 128 Wertepaaren nochmals nach. Die Regressions- und Korrelationsanalyse (Tab. 9) bestätigt durch die hohen Werte des Korrelationskoeffizienten $r = 0,96 + 0,08$ (95% Vertrauensbereich) die funktionelle Abhängigkeit zwischen Erythrozytenzahl und Gesamteiweiß. Unabhängig von der Eiweißkonzentration im blutfreien Liquor nimmt der Proteingehalt pro 10 000/3 gezählter Erythrozyten um 5,23 mg/ 100 ml zu. Olischer und Suchodoletz (20) geben in ihrer Arbeit eine Eiweißberhöhung von 3 mg/ 100 ml durch 10 000/3 Erythrozyten/ mm³ an. Daß unser Wert etwas höher liegt, kann man auf die sog. "Biuretdifferenz" zurückführen, d.h. die Tatsache, daß die mit der Biuretmethode gewonnenen Eiweißwerte höher liegen als bei anderen Verfahren (Delank (7)). Unser Ergebnis von 5,23 mg/100 ml deckt sich auch mit den theoretischen Erwartungen.

Bei $4,4 \cdot 10^6$ Erythrozyten/ mm³ Blut (Blutbild des Spenderblutes) und einem angenommenen Normalwert von 7 g Eiweiß/ 100 ml Serum entsprechen 10 000/3 Erythrozyten einem Serumeiweißanteil von 5,30 mg/ 100 ml, denn:

$$\begin{array}{rcl} 4,4 \cdot 10^6 \text{ Erythrozyten/mm}^3 & \text{---} & 7 \cdot 10^3 \text{ mg Eiweiß/100 ml} \\ 1/3 \cdot 10^4 \text{ Erythrozyten/mm}^3 & \text{---} & x \text{ mg Eiweiß/100 ml} \\ \hline x = \frac{7 \cdot 10^3 \cdot 10^4 \text{ mg/100 ml}}{4,4 \cdot 10^6 \cdot 3} & = & 5,30 \text{ mg/100 ml} \end{array}$$

Der aus unseren Messungen gewonnene Mittelwert von 5,23 mg/100 ml Eiweiß pro 10 000/3 Erythrozyten/mm³ stimmt also mit dem aus den Normalwerten des Blutbildes entnommenen theoretischen Wert von 5,30 mg/ 100 ml gut überein.

Bei unphysiologischen Veränderungen des Gesamteiweißes und/oder der Erythrozytenzahl im Blut des Patienten muß man zur exakten Rückrechnung auf das ursprüngliche Liquoreiweiß statt des aus unseren Messungen ermittelten Mittelwertes von 5,23 bzw. des theoretisch zu erwartenden Wertes von 5,3 mg/100 ml pro 10 000/3 Erythrozyten den aus dem Blutbild des Patienten errechneten Quotienten zugrunde legen. Normalerweise dürfte die Umrechnung mit 5,25 mg/100 ml Eiweiß pro 10 000/3 Erythrozyten jedoch genügen.

4.5.) Beeinflussung der Zusammensetzung des Liquoreiweißes durch (artefizielle) Blutbeimengungen.

Das Problem, ob die Zusammensetzung der Liquorproteine durch Blutbeimengungen verändert wird, wurde schon recht früh eingehend bearbeitet, zunächst mit Hilfe der Kolloidreaktionen, v.a. der Mastixreaktion durch Samson (26), der ein Korrelationsschema zwischen künstlich zugefügter Erythrozytenzahl, Gesamteiweiß und Normomastixreaktion aufstellte und alle von diesem Schema abweichenden Kombinationen als pathologische Liquorbefunde deutete. Obwohl die Zuordnung rein empirisch erfolgte, konnte er seine Hypothese durch zahlreiche klinische Beispiele bestätigen. Heute hat die Mastixkurve durch die Möglichkeit, mit der Elektrophorese die Eiweißfraktionen und mit der radialen Immundiffusion oder mit der Laser-Nephelometrie die Immunglobuline quantitativ zu bestimmen, stark an Bedeutung verloren.

Den Einfluß von Plasmapbeimengungen bzw. Zusatz von lysierten Erythrozyten auf das Elektropherogramm des Liquors haben Colberg (5) und Schmidt (30) eingehend untersucht. Es ergaben sich typische Mischelektropherogramme, die je nach Menge des zugesetzten Blutes zwischen dem Bild des reinen Liquor- und dem des reinen Serumelektropherogramms liegen (Abb.8a-d).

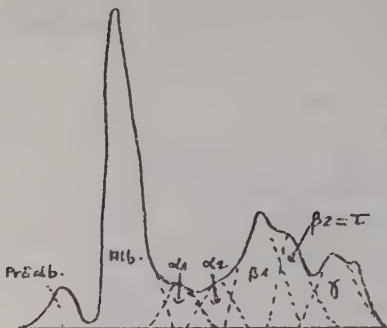


Abb.8a: Normales Liquorelektropherogramm. Albumin ca. 70 %, γ -Globuline ca. 10 % (oligoklonal strukturiert γ_1 - γ_2) Auffallend hoher Präalbuminanteil (5%) und β_2 - γ -Bande (vorwiegend Transferrin)

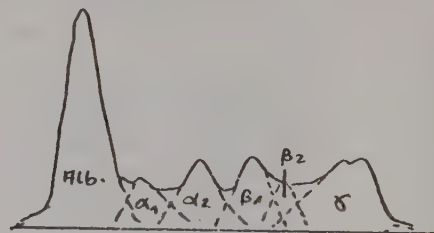


Abb.8: Normales Serumelektropherogramm. Diskrete α -Globulinbanden, keine Präalbumine und relativ hohe γ -Globuline

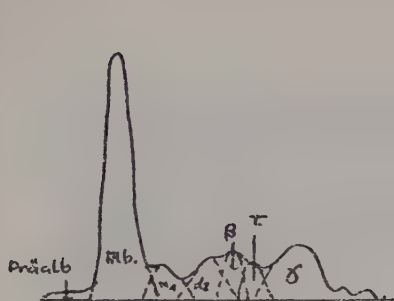


Abb. 8 c: Mischelektropherogramm Liquor/Plasma. Präalbumin und B_2 -Globulin sind vorhanden, aber wenig deutlich. Typischer Serumbestandteil ist das hohe γ -Globulin.

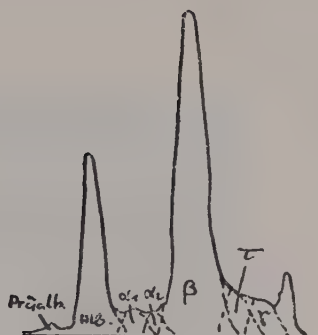


Abb. 8 d: Mischelektropherogramm Liquor/lysierte Erythrozyten. Schon bei sehr geringen Erythrozytenkonzentrationen taucht eine massive B_2 -Erhöhung auf (Hämohaptoglobinkomplex, immunologisch α_2 -Globulin).

Vahar-Matiar (35), der 6000 Liquores untersuchte, um sichere Unterscheidungsmerkmale zwischen Subarachnoidalblutung und artefizieller Blutbeimengung zu finden, hält neben dem Nachweis von Erythrozyten einen Anstieg der B -Globuline auf über 50 % des Gesamteiweißes für einen sicheren Hinweis auf eine Subarachnoidalblutung.

Das gilt natürlich nur dann, wenn der blutige Liquor noch am Tag der Punktion untersucht wird. Bleibt er längere Zeit unzentrifugiert stehen, so läßt sich das aus den lysierten Erythrozyten freigesetzte Hämoglobin auch bei artefiziell blutigem Liquor durch eine Erhöhung der B -Globulinfraction nachweisen.

Die Mischpherogramme vom Typ der Abbildungen 8 c und 8 d müssen nicht unbedingt auf einer Blutung in die Liquorräume beruhen. Auch beim transsudativen Liquorsyndrom, d.h. einer Störung der Permeabilität der Blut-Liquor-Schranke, ohne daß zelluläre Bestandteile des Blutes übertreten, kann es zur Diffusion blutspezifischer Proteine in die Liquorräume kommen. (7).

4.6.) Beeinflussung der Wassermann-Reaktion im Liquor durch artefizielle Blutbeimengungen.

Nach Untersuchungen von Teschler (34) ist im WaR-negativen Liquor nur dann eine positive WaR zu erwarten, wenn ihm ein mindestens im Verhältnis 1:100 Wassermann-Reagine enthaltendes Blut beigemischt ist. Putkonen und Kajanne (19) geben eine positive WaR im ursprünglich WaR-negativen Liquor an, wenn die Blutbeimengung mindestens 15 000/3 Erythrozyten/mm³ beträgt.

4.7.) Beeinflussung der Lipide im Liquor durch artefizielle Blutbeimengungen.

Bei Knauer und Heidrich (13) findet man lediglich den Hinweis, daß sich bei Blutungen in den Liquorraum eine gleichzeitig vorhandene endogene Cholesterinquote nicht abgrenzen lasse.

4.8.) Beeinflussung des IgG im Liquor durch artefizielle Blutbeimengungen.

Nachdem mit der radialen Immundiffusion nach Mancini (15) und der Laser-Nephelometrie (17) Methoden in die Liquordiagnostik eingeführt wurden, die auch bei normaler Proteinkonzentration eine IgG-Bestimmung erlauben, ohne den Liquor vorher einzukonzentrieren, erfährt die Messung der IgG-Konzentration im Liquor eine wachsende Bedeutung, obwohl der immunpathologische Stellenwert der Liquor-Immunphänomene noch weitgehend unbekannt ist.

Nach Delank (8) muß die funktionspathologische Interpretation von Liquor-IgG-Befunden von der Überlegung ausgehen, daß die IgG-Konzentration im Liquor sowohl unter dem Einfluß der Serum-IgG-Konzentration steht als auch von einer intracerebralen IgG-Synthese mitbestimmt werden kann.

Als Ursachen für eine Liquor-IgG-Erhöhung sind drei pathogenetische Wege zu unterscheiden:

1.) Jede Erhöhung des Serum-IgG bringt auch einen Anstieg der Liquor-IgG-Konzentration, auch dann, wenn kein cerebrales Krankheitsgeschehen vorliegt.

2.) Bei jeder durch erhöhte Schrankenpermeabilität (bis hin zur totalen Aufhebung der Schrankenfunktion, d.h. zur Subarachnoidalblutung) bedingten Liquordysproteinose ist auch mit einer

relativen Erhöhung der Liquor-Immunglobuline zu rechnen, weil schon unter physiologischen Bedingungen der IgG-Wert im Serum viel höher liegt als im Liquor.

Die lineare Abhängigkeit zwischen Gesamteiweiß und IgG bestätigt auch Weisner (37) durch statistische Auswertung von 414 Liquorbestimmungen. Davon stammten 190 von Normalpersonen und 224 von Patienten mit neurologischen Erkrankungen (Hirnatrophie, Bandscheibenprolaps, Enzephalomyelitis disseminata, Neoplasma, Subarachnoidalblutungen und akute entzündliche Reaktionen). Weisner stellte in allen Fällen fest, daß IgG und Gesamteiweiß linear korreliert waren. Bei den Patienten waren die Regressionskurven exakter und die Korrelationskoeffizienten höher als bei den Normalpersonen. Besonders hohe r-Werte erhielt er bei Patienten mit Subarachnoidalblutungen aufgrund des Einstromens von IgG und anderen Plasmaproteinen in die Liquorräume. Ganz ähnliche Befunde erhielt er bei Tumorpatienten und postulierte deshalb auch in diesen Fällen eine Penetration von Plasmaproteinen in die Liquorräume. Bei akuten entzündlichen Reaktionen fand er erhöhte IgG:Eiweiß-Quotienten und deutete sie mit zusätzlicher IgG-Synthese in oder nahe bei den Ventrikeln.

3.) Schließlich kann unabhängig von der Schrankenpermeabilität und ebenfalls unabhängig vom Serum-IgG-Gehalt die Liquor-IgG-Konzentration unter der Einwirkung eines im nervalen Parenchym lokalisierten immunologischen Geschehens angehoben werden.

Daraus ergeben sich folgende Konsequenzen:

- 1.) Der Einfluß einer IgG-Erhöhung im Serum muß durch gleichzeitige Bestimmung des Serum-IgGs berücksichtigt werden. Man sollte also bei jedem verdächtigen IgG-Befund im Liquor zunächst das IgG im Serum bestimmen, bevor man neuroimmunologische Erkrankungen vermutet.
- 2.) IgG-Erhöhdungen, die nur durch artefizielle Blutungen verursacht werden, kann man dadurch eliminieren, daß man den Zusammenhang zwischen Erythrozytenzahl und Liquor-IgG-Gehalt experimentell ermittelt und aus dem daraus berechneten IgG:Erythrozyten-Quotienten vom Gesamt-Liquor-IgG die durch artefizielle Blutung bedingten Anteile abzieht.

Unsere Untersuchungen an neun Meßreihen mit insgesamt 58 Wertepaaren (Tab. 6, Abb. 3) bestätigen die funktionelle lineare Abhängigkeit der IgG-Konzentration von dem Ausmaß der Blutbeimengung.

Die Steigerung des Liquor-IgG beträgt $1,00 \pm 0,54$ mg/ 100 ml IgG pro 10 000/3 Erythrozyten/mm³. Das entspricht ziemlich genau dem theoretisch zu erwartenden Wert von 0,95 mg/100 ml IgG pro 10 000/3 Erythrozyten/mm³.

Denn bei einem Normalwert des Serum IgG von $1,25 \cdot 10^3$ mg/100 ml (1) und einer Erythrozytenzahl von $4,4 \cdot 10^6$ Erythrozyten/mm³ (Blutbild des Spenderblutes) gilt:

$$\begin{array}{rcl} 4,4 \cdot 10^6 \text{ Erythrozyten/mm}^3 & \text{----} & 1,25 \cdot 10^3 \text{ mg IgG/100 ml} \\ 1/3 \cdot 10^4 \text{ Erythrozyten/mm}^3 & \text{----} & x \text{ mg IgG/100 ml} \end{array}$$

$$x = \frac{1,25 \cdot 10^3 \cdot 10^4 \text{ mg/100 ml}}{4,4 \cdot 3 \cdot 10^6} = 0,95 \text{ mg IgG/100 ml pro } 10\,000/3 \text{ Erythrozyten/mm}^3$$

Bei normalen Erythrozyten- und IgG-Werten im Blut genügt es also, mit 1,0 mg/100 ml IgG pro 10 000/3 gezählter Erythrozyten zurückzurechnen, um das ursprüngliche Liquor-IgG zu erhalten.

Bei starker IgG-Erhöhung im Blut z. B. bei akuter myeloischer Leukämie, Lupus erythematodes disseminatus und Leberzirrhose (1) muß man den Rückrechnungsfaktor aus der Erythrozytenzahl und dem IgG-Gehalt des Patientenblutes entnehmen.

Da für die Liquordiagnostik nicht nur der Absolutwert des IgG, sondern auch das Verhältnis IgG zum Gesamteiweiß eine Rolle spielt, besonders bei der Diagnose der multiplen Sklerose, die sich durch einen sehr hohen IgG:Eiweiß-Quotienten auszeichnet (4), wurde auch der Zusammenhang zwischen der Erythrozytenzahl und dem Quotienten 10·IgG/ Gesamteiweiß untersucht.

Es ergab sich eine Steigerung des 10·IgG/Eiweiß-Quotienten von $3,7 \pm 0,7$ pro 1 000 000/3 Erythrozyten/mm³. Das zeigt, daß der IgG/Eiweiß-Quotient erst auf sehr große Blutbeimengungen anspricht, wie sie in der Routinediagnostik kaum vorkommen (19).

Die r-Werte von $0,74 \pm 0,25$ (95 % Vertrauensbereich) sind zu niedrig, um den so ermittelten Wert als Rückrechnungsfaktor verwenden zu können.

Die sicherste Möglichkeit, autochthone Liquor-IgG-Erhöhrungen von solchen durch Permeabilitätsstörungen der Blut-Liquorschranke, Blutungen und Serum-IgG-Erhöhrungen abzugrenzen, beruht nach Delank (8) und Laterre (14) auf dem wesentlichen Merkmal der lokalen IgG-Synthese im Liquorraum, daß diskrete Banden innerhalb des diffusen γ -Globulinbereiches auftauchen. Diese elektro-

phoretische Feinstruktur (oligoklonales IgG) tritt zum Beispiel bei multipler Sklerose auf, wo man im Liquor oligoklonales, im Serum polyklonales IgG findet.

Weitere Hinweise auf eine lokale IgG-Synthese erhält man durch die Bestimmung des Verhältnisses zwischen λ - und κ -Ketten, welches im Serum normalerweise 2 : 1 beträgt, während bei lokaler IgG-Synthese im Liquorraum der Kappa-IgG-Typ deutlich überwiegt.

Seit in letzter Zeit Antisera zur immunologischen Bestimmung der freien und gebundenen Kappa- und Lamdaketten zur Verfügung stehen, läßt sich mit der Mancini-Methode der Anteil der verschiedenen leichten Ketten in den Liquor-Immunglobulinen auch quantitativ bestimmen. So kann man mit dem Nachweis einer erhöhten Kappa-Lambda-Relation beweisen, daß eine lokale IgG-Produktion in den Liquorräumen stattgefunden hat. Diese Untersuchungen haben wir im Rahmen dieser Arbeit allerdings nicht durchgeführt.

4.9.) Beeinflussung der Glukose im Liquor durch artefizielle Blutbeimengungen.

Da sich die Glukosekonzentrationen im Liquor und im Serum nicht um mehrere Zehnerpotenzen wie beim Gesamteiweiß und beim IgG unterscheiden, sondern die Glukosekonzentration im Blut nur etwa 2-3 mal so hoch ist wie im Liquor (Normalwerte 70-100 mg/100 ml im Serum, 30-80 mg/100 ml im Liquor) (3), ist eine Veränderung des Glukosegehaltes im Liquor erst bei sehr hohen Blutkonzentrationen (mindestens 1:10) zu erwarten. Bei derart hohem Blutanteil im Liquor, wie er in der Diagnostik ohnehin nicht vorkommt, ist eine exakte Glukosebestimmung durch die spontan eintretende Gerinnung des Liquors unmöglich. Bei den in der Praxis vorkommenden Blutkonzentrationen von weniger als 150 000/3 Erythrozyten/mm³ wird die Liquorglukose nicht beeinflusst.

Dieser schon theoretisch einleuchtende Befund wird durch die in Tabelle 6 dargestellte Meßreihe bestätigt. Die bei acht verschiedenen Blut-Liquor-Mischungsverhältnissen zwischen 1:100 und 1:12 gemessenen Glukosewerte streuen um den Mittelwert $68,9 \pm 0,3$ (95 % Vertrauensbereich), der mit dem Glukosegehalt im blutfreien Liquor von 68,3 mg/100 ml übereinstimmt.

Untersuchungen hierzu sind von anderen Autoren nicht bekannt.

4.10.) Untersuchung des Einflusses der Zeit auf die Liquorbefunde.

Je mehr Zeit zwischen Punktion und Aufarbeitung des Liquors vergeht, desto stärker ist er sekundären Veränderungen ausgesetzt. Dies gilt besonders für den blutigen Liquor, da durch den Zerfall der Erythrozyten Hämoglobin freigesetzt wird, welches je nach Ausmaß der Blutung den Wert des Gesamteiweißes stark verfälschen kann. Aber auch der unblutige Liquor verändert sich mit der Zeit, da Glukose und Eiweiß enzymatisch abgebaut werden. Veränderungen durch Pilze und Bakterien sind außerdem zu berücksichtigen.

Die Tabellen 12 - 14 und die Abbildung 4 zeigen anhand der Auswertung von 5 Meßreihen mit insgesamt 48 Bestimmungen von Erythrozyten- und Leukozytenzahl sowie Gesamteiweiß bei 25°C und 2 Meßreihen mit insgesamt 29 Bestimmungen bei 4°C im Verlauf der Zeit, daß die Zellzahlen exponentiell abnehmen, während das Eiweiß durch das freiwerdende Hämoglobin entsprechend ansteigt. Die Zunahme des Gesamteiweißes mit der Zeit ist bei starken Blutungen deutlicher ausgeprägt als bei schwachen, weil entsprechend mehr Hämoglobin freigesetzt wird.

Ein Vergleich der bei den verschiedenen Temperaturen 25 bzw. 4°C ermittelten Meßreihen ergibt, daß die Schwankungen der Haltbarkeit der Zellen bei gleicher Temperatur in derselben Größenordnung liegen wie die Unterschiede in den bei verschiedenen Temperatur gemessenen Versuchsreihen. Man kann folglich mit dem vorhandenen Material keine signifikante Aussage über den Einfluß der Temperatur auf die Stabilität der Zellen im Liquor machen.

In der Literatur findet man zu diesem Problem sehr unterschiedliche Behauptungen. Bischoff (zitiert bei Durfresne (9)) schreibt den verschiedenen Temperaturen keinen Einfluß auf die Haltbarkeit der Zellen zu, während nach Meinung anderer Autoren die degenerativen Prozesse verzögert werden.

In jedem Fall sind die Abbaugeschwindigkeiten bei 4°C und bei Raumtemperatur nicht so unterschiedlich, daß die diagnostischen Daten je nach Aufbewahrungstemperatur des Liquors deutlich differieren. Also kann man auch unzentrifugierten Liquor im Kühlschrank aufbewahren, was schon wegen sekundären Bakterien- und Pilzbefalls günstiger ist.

Durfresne (9) berücksichtigt in seinem Bericht nur die morphologischen Veränderungen der Zellen und vertritt die Auffassung, daß die Empfindlichkeit der verschiedenen Zelltypen variabel, diejenige eines bestimmten Zelltyps, auch bei verschiedenen pathologischen Zuständen, relativ konstant sei. Er gibt die Überlebensdauer der neutrophilen Granulozyten mit 3-5 Tagen an. Dies stimmt mit unseren Beobachtungen überein: Wir fanden beim physiologischen p_H -Wert von 7,5 nach 80 Stunden (= 3 1/3 Tage) noch 70 % der Zellen wieder. Allerdings ist die Zellzahl kein Maß dafür, wieviele Zellen überleben. Nach vier Stunden stellten wir nämlich schon deutliche morphologische Veränderungen der Erythrozyten (Stechapfelformen, Zellverklumpungen), nach 6-8 Stunden auch Zerfallserscheinungen der Leukozyten fest, so daß ein großer Teil der von uns mitgezählten Zellen nicht mehr lebten.

Nach Durfresne (9) haben die neutrophilen Granulozyten im Liquor post mortem eine Überlebensdauer von nur einer Stunde, die lympho- und monozytären Zellen von etwa drei bis sechs Stunden.

Dafür, daß die Erythrozyten im Liquor in vitro bald absterben, gibt es Hinweise, nämlich die Stechapfelformen und andere Veränderungen (siehe oben) und wohl auch die Beobachtung, daß die Glukose im blutigen Liquor mit der Zeit nicht stärker abnimmt als im unblutigen Liquor, also von den Erythrozyten nicht zur anaeroben Glykolyse verwertet wird.

Schließlich beeinflußt auch die Art der Liquorentnahme (Dicke der Punktionskanüle, Geschwindigkeit des Aspirierens) die Haltbarkeit der Zellen.

Für die Ermittlung der zeitlichen Verläufe von Zellzahl und Gesamteiweiß wurden relativ große Liquormengen pro Meßreihe (50 ml und mehr) benötigt. So resultierten verschieden lange Zeiten, bis genügend Liquor dafür gesammelt war. D.h. dieser Mischliquor war von Versuch zu Versuch verschieden alt. Da aber der p_H -Wert des Liquors mit seinem Alter kontinuierlich ansteigt, liegt es nahe, die verschiedenen p_H -Werte des Ausgangsliquors für die Schwankungen in der Geschwindigkeit des Zellzerfalls verantwortlich zu machen.

Die Ergebnisse unserer Verlaufsstudie über

fast 10 Tage (Tab. 18, Abb. 7..) zeigen, daß die Haltbarkeit der Zellen umso stärker abnimmt, je mehr sich der p_H -Wert vom physiologischen Bereich (7,5) entfernt.

Da die Veränderungen des Liquors nach der Punktion lediglich auf der Auflösung der in ihm enthaltenen Zellen sowie auf dem Abbau der Proteine und der Glukose beruhen, müßte der Wert der Immunglobuline konstant bleiben, es sei denn, sie wurden proteolytisch so weit abgebaut, daß ihre Antigen determinanten verloren gehen und sie so einer immunologischen Nachweis methode entzogen würden.

In zwei Meßreihen bei einer Aufbewahrungstemperatur des Liquors von 25°C fanden wir (Tabelle 15), daß sich die IgG-Konzentrationen mit der Zeit nicht ändern, unabhängig davon, ob viel (1:100), wenig (1:500) oder gar kein Blut zugefügt wurde. Die praktische Konsequenz ist, daß eine korrekte IgG-Bestimmung auch noch mehrere Tage nach der Punktion des Liquors durchführbar ist.

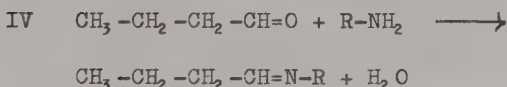
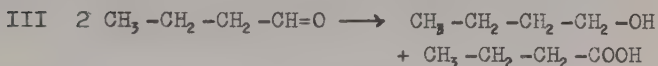
Bei zwei Patienten lag die Glukose im zellfreien und im künstlich mit Blut versetzten (1:100) Liquor 72 Stunden nach der Punktion um ca. 8-10 % niedriger als unmittelbar nach der Punktion. Dieser Effekt könnte auf enzymatischem Glukoseabbau beruhen. Wieweit andere sekundäre Liquorveränderungen wie z.B. p_H -Anstieg, Ammoniakentstehung ect. eine Rolle spielen, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht eruiert werden.

In den Liquores von drei Patienten wurde der p_H -Wert in Abhängigkeit von der Zeit bestimmt (Tabelle 17, Abbildung 5). In allen Fällen zeigt sich eine exponentielle Abnahme der H^+ -Ionenkonzentration, die sich durch Entweichen von CO_2 aus dem Liquor in diesem Ausmaß nicht deuten läßt. Denn der p_K -Wert der Kohlensäure liegt im Liquor bei 6,1-6,3 (30) und kann daher p_H -Anstiege auf über 8,0 nicht erklären. Eine derart starke Alkalisierung ließe sich nur durch OH^- -Ionen, Ammoniak und primäre Amine erzeugen.

Der 72 Stunden alte Liquor des zweiten Patienten (p_H = 8,2) wurde mit 10 % igem Formaldehyd im Verhältnis 1:1 versetzt, und der p_H -Wert sank dadurch wieder auf 7,48. Diesen Effekt kann man sowohl durch die Anwesenheit von Ammoniak erklären, der mit Formaldehyd zu Urotropin reagiert (21) (I), als auch durch die Entstehung

primärer Amine, die durch Formaldehyd unter Bildung der entsprechenden Schiffischen Basen abgefangen werden (21) (II).

Einen ziemlich sicheren Hinweis auf die Gegenwart primärer Amine lieferte die Beobachtung, daß die p_H -Erhöhung des Liquors auch durch Zugabe von nur 150 μ l n-Butyraldehyd zu 10 ml Liquor vom $p_H = 8,8$ rückgängig gemacht werden konnte. Da n-Butyraldehyd mit Ammoniak nicht reagiert und eine Disproportionierung zu Buttersäure und n-Butanol nach Canizzaro (21) (III) unter den herrschenden milden Bedingungen sehr unwahrscheinlich ist, kommt als Ursache der p_H -Verschiebung nur die Reaktion zur entsprechenden Schiffischen Base (IV) in Frage.



Wir schließen daraus, daß sich im Liquor durch Proteinabbau primäre Amine bilden, die zumindest zum Teil den p_H -Anstieg bedingen können.

Die Ammoniak-Konzentration im Liquor stieg bei allen drei untersuchten Proben in 3-5 Tagen auf das Doppelte des ursprünglichen Wertes an (Tabelle 16). Damit erweist sich die Ammoniak-entstehung in vitro als Hauptursache für den p_H -Anstieg im Liquor.

Sowohl die Bildung primärer Amine als auch die des Ammoniaks im stehenden Liquor läßt sich durch proteolytischen Abbau der Liquoreiweiße und anschließende Decarboxylierung oder direkt durch Decarboxylierung der im Liquor vorhandenen freien Aminosäuren, v.a. Glutamin, leicht vorstellen.

5.) Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, die Veränderungen liquordiagnostischer Daten durch artefizielle Blutbeimengungen zu erfassen und Möglichkeiten aufzuzeigen, wie man auch bei stark blutigem Liquor noch brauchbare diagnostische Aussagen machen kann.

Unsere Untersuchungen erbrachten folgende Ergebnisse:

- 1.) Zwischen Blutbeimengung und Leukozytenzahl, Blutbeimengung und Gesamteiweiß sowie Blutbeimengung und IgG bestehen lineare funktionelle Zusammenhänge, die auch theoretisch zu erwarten sind und durch hohe Korrelationskoeffizienten bestätigt werden.
- 2.) Bei normaler Blutzusammensetzung des Patienten kann man im artefiziell blutigen Liquor mit folgenden Rückrechnungsfaktoren die Werte des unblutigen Liquors ermitteln:

Pro 1000/3 Erythrozyten/mm³ muß man 1,5/3 Leukozyten abziehen.

Pro 10 000/3 Erythrozyten/mm³ muß man 5,25 mg Eiweiß/100 ml abziehen.

Pro 10 000/3 Erythrozyten/mm³ muß man 1,0 mg IgG/100 ml abziehen.

Pro 10 000/3 Erythrozyten/mm³ steigt der Quotient $\frac{10 \cdot \text{IgG}}{\text{Eiweiß}}$ um 0,04.

- 3.) Die Glukose wird durch die in der Diagnostik vorkommenden Blutkonzentrationen nicht beeinflußt.
- 4.) Die IgG-Werte im blutigen und unblutigen Liquor ändern sich nicht mit der Zeit. Daher ist eine korrekte IgG-Bestimmung auch noch mehrere Tage nach der Punktion des Liquors möglich.

- 5.) Die Zahlen von Erythrozyten und Leukozyten im Liquor nehmen mit der Zeit exponentiell ab. Entsprechend der Hämolyse und der damit verbundenen Freisetzung von Hämoglobin steigt das Gesamteiweiß im blutigen Liquor mit der Zeit an.
- 6.) Die Glukosewerte im blutigen und unblutigen Liquor nehmen mit der Zeit langsam ab. Ursache dürfte ein enzymatischer Abbau der Glukose in vitro sein.
- 7.) Der p_H -Wert im blutigen und im unblutigen Liquor steigt mit der Zeit linear an. Da diese Alkalisierung durch Zugabe von Aldehyden teilweise wieder rückgängig gemacht werden kann, sind offenbar primäre Amine mit daran beteiligt. Hauptursache dürfte der zeitliche Anstieg des Ammoniakgehaltes sein, der in 3 - 5 Tagen auf das Doppelte des ursprünglichen Wertes wächst. Amine und Ammoniak kann man sich durch enzymatischen Eiweißabbau entstanden denken.

Literaturverzeichnis.

- 1.) Behringwerke AG, Med. Information und Vertrieb, Partigen Immundiffusionsplatten, D. div. 1974, 7/37, 50
- 2.) Boehringer Mannheim GmbH, Diagnostika, Testfibel Gesamteiweiß 1976
- 3.) Boehringer Mannheim GmbH, Diagnostika, Testfibel Glukoquant 1976
- 4.) Cognazzo, A., Grasso, E., Studio preliminare sulle Immunglobuline G nel Liquido cefalo-rachidiano di malati neurologici, Minerva med. 68, 1531 - 1535, 1977
- 5.) Colberg, G., Der blutige Liquor, Inaugural-dissertation, Würzburg 1955
- 6.) Da Fonseca-Wollheim, F., Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 11, 1973, 421 - 426
- 7.) Delank, H.W., Klinische Liquordiagnostik, Der Nervenarzt 43, 2, 1972
- 8.) Delank, H.W., Klinische Relevanz der Immunglobulin G-Bestimmung im Liquor cerebrospinalis, Behring, Laboratoriumsblätter 25, 150, 1973
- 9.) Durfresne, J.-J., Praktische Zytologie des Liquors, Dokumenta Geigy, Ciba Geigy AG, Basel
- 10.) Gilland, O., Cerebrospinal fluid, Prog. Neurol. Psychiatry 25, 214 - 237, 1970
- 11.) Guner, M.M., The effect of arteficial blood admixture on the results of subsequent cerebrospinal fluid analysis. Zh. Neuropatol. Psikhiatr. 72, 510 - 512, 1972
- 12.) Guner, M.M., Differentialdiagnostische Bedeutung der Benzidinprobe in der Liquor-analyse, Sov. Med. 151 - 152, 1973

- 13.) Heidrich und Knauer, Liquorlipide,
Z. Neurol. Psych. 136, 483, 1931
- 14.) Laterre, E.C., Proteine im Liquor cere-
brospinalis, Behring, Laboratoriums-
blätter 25, 125 und 147, 1975
- 15.) Mancini, G.A., Carbonaro, O., Hermans, I.F.,
Immunochemistry 2, 235, 1965
- 16.) Merck, E., Klinisches Labor, Darmstadt 1974
- 17.) Pflughaupt, K.W., Sieber, A., Hackenberg, S.,
IgG-Bestimmung im Liquor cerebrospinalis
mittels Laser-Nephelometer, Behring Labo-
ratoriumsblätter 28, 1/1978, 37 - 41
- 18.) Patten, B.M., How much blood makes the
cerebrospinal fluid bloody? JAMA 206,
378, 1968
- 19.) Putkonen und Kajanne, Zentralblatt Neurol.
Psych. 118, 184, 1951
- 20.) Olischer, R.M., Suchodoletz, W. von, Zur
Bewertung quantitativer Zellbefunde im
bluthaltigen Liquor cerebrospinalis,
Z. ärztl. Fortbildg. (Jena) 66, 213 - 218,
1972
- 21.) Organikum, 10. Auflage, 1971, VEB Deutscher
Verlag der Wissenschaften
- 22.) Raue, F., Die Gerinnung blutigen Liquors,
Klin. Wschr. 4, 265, 1925
- 23.) Rick, W., Klinische Chemie und Mikroskopie,
Springer Verlag 1974
- 24.) Sack, Der blutige Liquor, Med. Rdsch. 1,
134, 1947
- 25.) Sachs, L., Angewandte Statistik, Springer
Verlag 1974
- 26.) Samson, K., Zur Frage der Verwertbarkeit
bluthaltigen Liquors, Klin. Wschr. 21,
971 - 974, 1929
- 27.) Sayk, Cytologie der Cerebrospinalflüssig-
keit, Fischer Jena, 1960

- 28.) Schenk, E., Neurologische Untersuchungsmethoden, Thieme Stuttgart, 1975, 230
- 29.) Schlack, H., Beitrag zur diagnostischen Verwertbarkeit des blutigen Liquors, Münch. med. Wschr. 75, 1502, 1928
- 30.) Schmidt, R.M., Seifert, B., Blutiger Liquor, in "Der Liquor cerebrospinalis", Schmidt, R.M., VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1968, 523 - 538
- 31.) Scholz, H., Pirker, E., Schreyer, H., Summer, K., Liquorbefunde bei meningealer Abwehrreaktion nach Myelographien, Wien. klin. Wschr. 84, 833 - 838, 1972
- 32.) Schumm, F., Oehnichen, M., Koch, W., Veränderungen des Liquor cerebrospinalis bei Pneumenzephalographie, Vortrag auf dem Liquorsymposion, Würzburg, 24.-26.11. 1977
- 33.) Stuart, H.N., Molekülstruktur, Berlin 1954
- 34.) Teschler, L., Zur Untersuchung blutigem Liquors, Dtsch. Z. Nervenkl. 98, 274, 1927
- 35.) Vahar-Matiar, Müller, J., Lippen, G., Der blutige Liquor, Acta Neurochir.(Wien) 29, 3 - 4 , 229 -245, 1973
- 36.) Weichselbaum, C.T.E., An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma, Am. J. clin. Pathol. 16, 40 - 49, 1946
- 37.) Weisner, B., Schnedler, R., Bernhard, W., Immunglobuline A,G und M im lumbal entnommenen Liquor cerebrospinalis. Nervenarzt 46, 9, 532 - 538, 1975
- 38.) Williams, E.J., Regression Analysis, New York 1959
- 39.) Wüllenweber, G., über die Frage der Verwendbarkeit des Liquor cerebrospinalis zu diagnostischen Zwecken bei artefizieller Blutbeimengung, Klin. Wschr. 3, 1756 - 1758, 1924

Lebenslauf.

Am 2. Mai 1950 wurde ich als Tochter des Amtsrichters Günther Pretzel und seiner Ehefrau Irmgart, geb. Roy, in Kempten (Allgäu) geboren. Von 1956 bis 1960 besuchte ich die evangelische Volksschule, von 1960 bis zum Abitur im Juni 1969 den altsprachlichen Zweig des Chiemgau-Gymnasiums in Traunstein (Oberbayern).

Im Wintersemester 1969/70 begann ich mit dem Studium der Chemie an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule in Aachen. Nach dem Vordiplom im August 1971 wechselte ich zur Johannes Gutenberg-Universität in Mainz. Am 4. August 1972 heiratete ich den Diplomchemiker Dr. Eckart Reske.

Im Sommersemester 1973 ließ ich mich in Medizin immatrikulieren, bestand im März 1975 das Physikum, nach meiner Diplomarbeit in Organischer Chemie bei Professor Ringsdorf in Mainz im März 1976 die Diplomprüfung in Chemie und im August 1976 den ersten Teil des medizinischen Staatsexamens. Vom Juli 1977 bis zum Mai 1978 war ich mit meiner Dissertation bei Professor Haferkamp an der Neurologischen Klinik der Universitätskliniken Mainz beschäftigt. Nach Famulaturen in Mainz und Athen bestand ich im August 1978 den zweiten Abschnitt und nach dem Praktischen Jahr an der Universitätsklinik Mainz im November 1979 den dritten Abschnitt des Medizinischen Staatsexamens und die Doktorprüfung.

